Farbsalze von Thieno- und Benzo[1,4]diazepinen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Claudia Kaiser

aus Georgensgmünd

1985

LIBRARY
HUDSON
MAINE

Farbsalze von Thieno- und Benzo[1,4]diazepinen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Claudia Kaiser

aus Georgensgmünd

Tag der mündlichen Prüfung:	4. September 1985
Dekan:	Prof. Dr. K.-A. Kovar
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. K.-A. Kovar
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. H.J. Roth

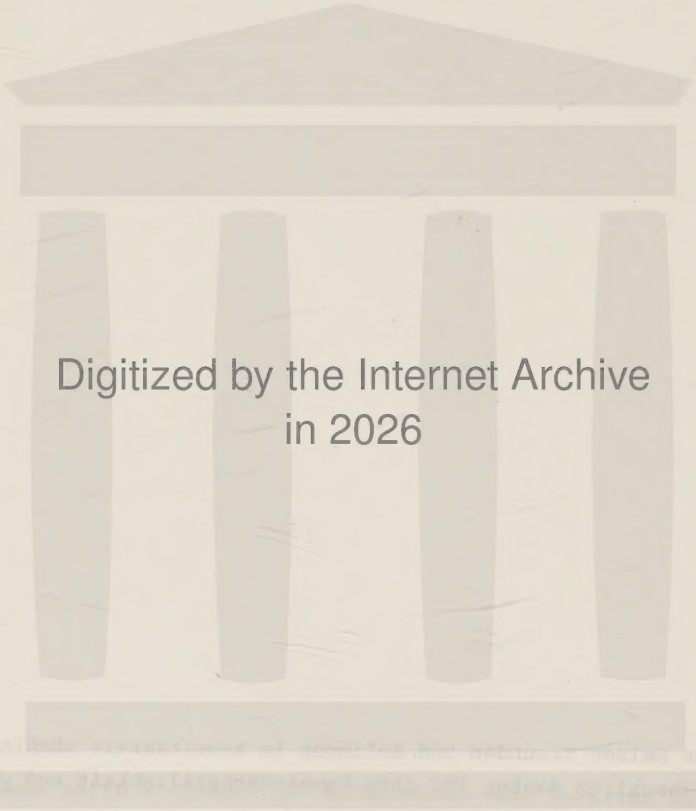
Meinen Eltern
und Peter gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde im Oktober 1982 unter Anleitung von Herrn Professor Dr. K.-A. Kovar am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen begonnen und im Mai 1985 abgeschlossen.

Ich danke Herrn Professor Dr. K.-A. Kovar sehr herzlich für die wertvollen Anregungen und seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Den Firmen Hoffmann-La Roche AG, Boehringer Ingelheim, Upjohn GmbH und den Troponwerken GmbH & Co danke ich für die Überlassung von Originalsubstanzen.

Allen meinen Freunden und Kollegen im Arbeitskreis möchte ich sehr herzlich danken für ihre Kameradschaftlichkeit und die gute Zusammenarbeit im Labor.
Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. D. Walter, geb. Linden, für ihre stetige Hilfsbereitschaft.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546523_0009

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
2	MEISENHEIMER Farbsalze von Thieno- und Benzo[1,4]-diazepinen	5
2.1	Elektronenspektroskopische Untersuchungen	5
2.2	^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchungen	6
2.2.1	Triazolam	6
2.2.2	Brotizolam	11
2.2.3	Clotiazepam	16
2.2.4	2'-Chlordiazepam	20
2.2.5	N-1-Methylclonazepam	24
2.2.6	Flunitrazepam	29
2.2.7	N-1-Methylnitrazepam	33
2.3	Diskussion der Ergebnisse	38
2.3.1	Kopplungskonstanten	38
2.3.2	Auswertung der chemischen Verschiebungen	39
2.3.2.1	MEISENHEIMER Salze von Triazolam und Brotizolam	40
2.3.2.2	MEISENHEIMER Salz von Clotiazepam	44
2.3.2.3	MEISENHEIMER Salze von 2'-halogenierten Benzodiazepinen	45
3	Farbsalze von Benzodiazepinen mit Lauge	47
3.1	Farbsalze von Clonazepam und Bromazepam	47
3.1.1	Elektronenspektroskopische Untersuchungen	47
3.1.2	^{13}C-NMR-spektroskopische Untersuchungen	49
3.1.3	^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchungen	56
3.2	Farbsalz von Flunitrazepam mit Lauge	61
3.2.1	Grundsätzliche Überlegungen	61
3.2.2	Strukturaufklärung des gelben Farbstoffes	62
3.2.2.1	DC-Untersuchung	62
3.2.2.2	Elektronenspektroskopische Untersuchung	63
3.2.2.3	Infrarotspektroskopische Untersuchung	66
3.2.2.4	Protonenresonanzspektren	67
3.2.2.5	Kohlenstoffresonanzspektren	72

Seite

3.2.3 Zur Konformation des Glycinimin derivates..... 78
3.2.3.1 Vergleich der Protonenspektren des Glycinimin-Natriumsalzes mit seiner freien Säure..... 78
3.2.3.2 Interpretation der ^{13}C-Spektren..... 87
3.2.3.3 Diskussion der Ergebnisse..... 88

4 Zusammenfassung..... 91

5 Experimenteller Teil..... 95
5.1 Geräte und Methoden..... 95
5.2 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektren der Benzodiazepine 4a-13a 96
5.3 Darstellung von N-1-Methylclonazepam..... 105
5.4 Darstellung der MEISENHEIMER Salze..... 105
5.5 Spektroskopische Charakterisierung von Flunitrazepam..... 107
5.6 Darstellung der Spaltprodukte von Flunitrazepam. 112
5.7 Prüfung auf künstliche Maxima..... 125

6 Anhang: Versuche zur elektronenspektroskopischen Bestimmung von Diazepam über sein MEISENEHEIMER Salz..... 130
6.1 Überprüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes..... 130
6.2 Erstellung von Eichgeraden für Diazepam..... 131

7 Literaturverzeichnis..... 136

1 Einleitung

Zur Unterscheidung von Benzodiazepinen der allgemeinen Struktur 1a können verschiedene Reaktionen herangezogen werden. Neben der Diazo-Kupplungsreaktion nach saurer Hydrolyse[1] bzw. der DC-Trennung der unter Säureeinwirkung gebildeten Benzophenonderivate[2], stehen auch direktere Nachweismethoden zur Verfügung[3]: Aus N-1-alkylierten Verbindungen, die an C-2 eine Carbonylfunktion tragen, bilden sich mit 1,3-Dinitrobenzol und Lauge violette MEISENHEIMER Salze. Die Carbonylgruppe kann auch durch die C=N-Teilstruktur eines Triazoloringes ersetzt sein.

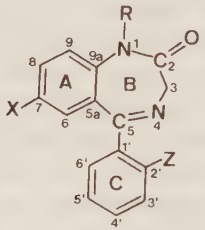
N-1-unsubstituierte Benzodiazepine sind N-H-acid[4-6] und bilden mit Alkali gelbe Farbsalze[7], sofern, wie bei Nitrazepam, in p-Stellung ein stark elektronenziehender Substituent vorhanden ist.

Ferner lassen sich die verschiedenen Farbreaktionen von Benzodiazepinen nach Erhitzen mit DMSO oder nach Säurezusatz zu ihrer Unterscheidung heranziehen.

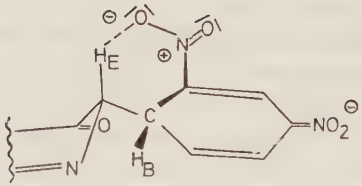
BIEGERT gelang es erstmals, aus Diazepam und 1,3-Dinitrobenzol in etherischer Lösung auf Zusatz von Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH) ein MEISENHEIMER Salz auszufällen[8], dessen Konformation von LINDEN weiter untersucht wurde[3]. In den ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren der MEISENHEIMER Salze von Diazepam (2a) und Prazepam (3a) fielen Signalverdopplungen im Verhältnis 75:25 $\pm$ 10% bzw. 69:31 $\pm$ 10% auf. Für die Hauptprodukte stellte LINDEN die Konformation 1b, für die Nebenprodukte 1c oder 1d zur Diskussion. 1c und 1d sind Rotamere, 1b und 1c/d dagegen Diastereomere, die durch Angriff des Benzodiazepin-Carbanions von verschiedenen Seiten am 1,3-Dinitrobenzol-Molekül gebildet werden.

Im Gegensatz zu N-1-alkylierten Verbindungen reagieren N-1-unsubstituierte Derivate mit 1,3-Dinitrobenzol und Lauge nicht zu einem violetten MEISENHEIMER Addukt, da diese nicht C-H- sondern N-H-acid sind. So bildet sich aus Nitrazepam mit Lauge das gelbe resonanzstabilisierte Anion 4b mit unsymmetrischer Ladungsverteilung von N-1 über die Kohlenstoffe 9a, 5a, 6 und 7 zur Nitrogruppe.

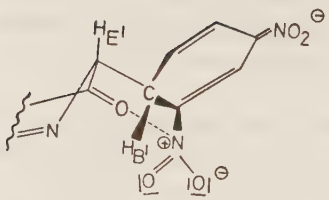
Auch die N-1-unsubstituierten Benzodiazepine Clonazepam (5a) und Bromazepam (6a) reagieren mit Alkali unter Gelbfärbung. Auffällig ist jedoch, daß sich auch Flunitrazepam (7a), obwohl N-1-methyliert, gelb färbt[7].



1a

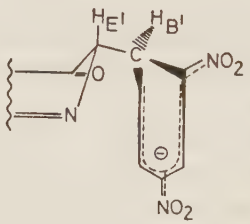


Konformation des Hauptproduktes 1b



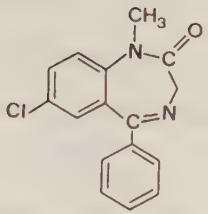
Konformation des Nebenproduktes mit dem Diederwinkel 140±25°

1c

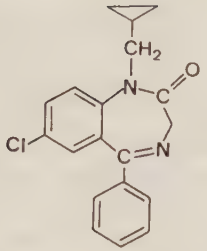


Konformation des Nebenproduktes mit dem Diederwinkel 25±20°

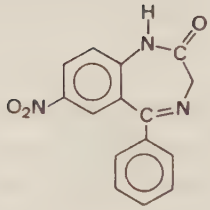
1d



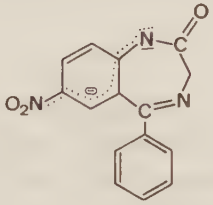
Diazepam (2a)



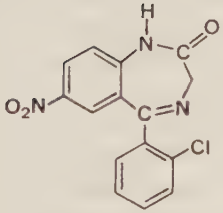
Prazepam (3a)



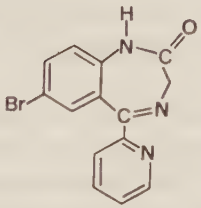
Nitrazepam (4a)



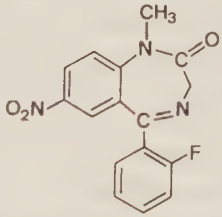
Natriumsalz von Nitrazepam (4b)



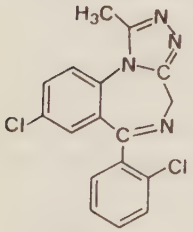
Clonazepam (5a)



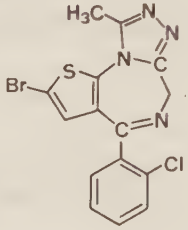
Bromazepam (6a)



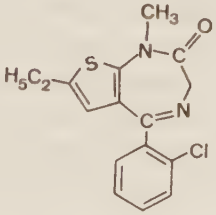
Flunitrazepam (7a)



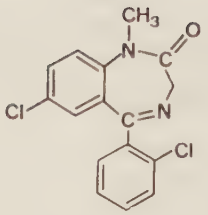
Triazolam (8a)



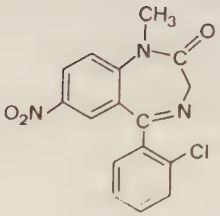
Brotizolam (9a)



Clotiazepam (10a)



2'-Chlordiazepam (11a)



N-1-Methylclonazepam (12a)

Ziel der Arbeit ist es, durch die Untersuchung von MEISENHEIMER Salzen anderer Benzodiazepine weitere Aufschlüsse über die räumliche Anordnung der Atome des Dinitrohexadienatrestes in Haupt- und Nebenprodukt zu erhalten. Insbesondere interessierte der Einfluß des Triazolo- bzw. Thiophenringes in Triazolam (8a), Brotizolam (9a) oder Clotiazepam (10a) sowie die Auswirkungen raumfüllender Substituenten an C-2' auf die einzelnen Protonen des Dinitrocyclohexadienatrestes bei 2'-Chlordiazepam (11a), N-1-Methylclonazepam (12a) und Flunitrazepam (7a).

Außerdem soll geklärt werden, ob in den Natrium-Salzen von Clonazepam (5a) und Bromazepam (6a) eine ähnliche Ladungsverteilung wie bei 4 vorliegt. Da Flunitrazepam (7a) N-1-substituiert ist, kann die Gelbfärbung mit Lauge in diesem Fall nicht auf die Bildung eines mesomeriestabilisierten Benzodiazepin-Anions zurückgeführt werden. Die Konstitution des gelben Farbproduktes soll deshalb ebenfalls untersucht werden.

2 MEISENHEIMER Farbsalze von Thieno- und Benzo[1,4]diazepinen

2.1 Elektronenspektroskopische Untersuchungen

Mit Hilfe der UV/VIS-Spektroskopie lassen sich Voruntersuchungen anstellen, ob es sich bei den Produkten aus C-H-aciden Verbindungen mit 1,3-Dinitrobenzol (DNB) und Lauge um MEISENHEIMER Salze oder ZIMMERMANN-Verbindungen handelt[9,10]. Die Absorptionsmaxima der MEISENHEIMER Komplexe sind weitgehend unabhängig vom addierten Ketokörper, zeigen jedoch Solvatochromie. Die Maxima von ZIMMERMANN-Verbindungen sind im Gegensatz dazu nicht vom Lösungsmittel, sondern von der C-H-aciden Komponente abhängig.

Tab. 1: Elektronenspektren der Farbsalze von Benzo- und Thienodiazepinen mit DNB und 0,1 N-Tetramethylammoniumhydroxidlösung (TMAH) in abs. Ethanol

Substanz	λ_{max}	E	ε	λ_{max} nach 1 h	E nach 1 h	ε nach 1 h
Bromazepam	551	0,130	130	532	0,195	195
Brotizolam	552	0,354	354	534	0,414	414
Clotiazepam	554	0,218	218	538	0,348	348
Diazepam	555	0,354	354	538	0,496	496
Flunitrazepam	552	0,594	594	530	0,653	653
Prazepam	553	0,129	129	530	0,293	293
Triazolam	555	0,408	408	532	0,558	558

$C_{Benzodiazepin} = 10^{-3}$ mol/l $C_{DNB} = 2 \cdot 10^{-2}$ mol/l
$C_{TMAH} = 2 \cdot 10^{-2}$ mol/l

Da alle Maxima bei gleicher Wellenlänge liegen, kann davon ausgegangen werden, daß es sich ausnahmslos um MEISENHEIMER Salze handelt[11]. Weiterhin fällt auf, daß sich die MEISENHEIMER Verbindungen in Ethanol sehr schnell zersetzen. Dabei verblaßt die Violettfärbung, die Lösung verfärbt sich bräunlich und die ε-Werte steigen an. Die Maxima werden zu kürzeren Wellenlängen verschoben.

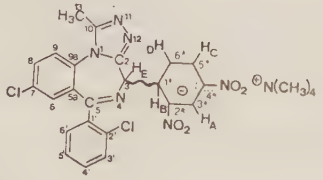
Versuche zur Optimierung der Reaktionsbedingungen im Hinblick auf eine quantitative elektronenspektroskopische Bestimmung der Benzodiazepine über ihre MEISENHEIMER Salze scheiterten an der Instabilität der Komplexe.

2.2 ^{1}H-NMR-spektroskopische Untersuchungen

2.2.1 MEISENHEIMER Salze (8b und c/d) von Triazolam

Durch den elektronenziehenden Effekt der Azomethinteilstruktur des Triazoloringes wird die 3-Methylen-Gruppe von Triazolam aktiviert, so daß die Reaktion mit DNB und Lauge positiv ausfällt.
Die von BIEGERT[8)] ausgearbeitete Methode zur Ausfällung des MEISENHEIMER Salzes konnte in diesem Fall nicht angewendet werden, da Triazolam durch den Heterocyclus polar und damit in Ether nur schlecht löslich ist. Die Isolierung MEISENHEIMER Salze von in Ether unlöslichen Benzodiazepinen gelang auch nicht nach anderen bekannten Methoden[12-18)].
Äquimolare Mengen an Triazolam und DNB wurden deshalb in einer möglichst kleinen Menge Chloroform gelöst, 0,1 N-TMAH-Lösung zugetropft und das blauviolette, in Chloroform lösliche Produkt möglichst schnell mit einem Überschuß an Ether ausgefällt. Eine vollständige Umsetzung des Ausgangsproduktes Triazolam konnte nicht erreicht werden, so daß sich in dem NMR-Spektrum zusätzliche Signale für nicht umgesetztes Triazolam befinden, zumal es sich aus dem MEISENHEIMER Salz auch nicht durch Ether auswaschen läßt. Da die Verunreinigung nur von geringem Ausmaß ist, wird die Interpretation nur geringfügig beeinträchtigt (Tab. 2, Abb. 1 und 2).

Tab. 2: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von Triazolam (8a) in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.54	d 2,0 ^4J mit H_C d 0,5 ^4J mit H_B
$H_{A''}$	8.45	d 2,0
$H_{A'}$	8.43	d 2,0 ^4J mit $H_{C'}$ d 1,0 ^4J mit $H_{B'}$
$H_{aromat.}$	7.9-6.9	
H_C	6.82	d 10,0 ^3J mit H_D d 2,0 ^4J mit H_A d 1,5 ^4J mit H_B
$H_{C'}$	verdeckt durch H_C	
H_D	6.36	d 10,0 ^3J mit H_C d 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	5.85	d 10,0 ^3J mit $H_{C'}$ d 5,3 ^3J mit $H_{B'}$

Tab. 2 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
$H_{B'}$	5.15	d 7,5 ^3J mit $H_{E'}$
		d 5,3 ^3J mit $H_{D'}$
		t 1,0 ^4J mit $H_{A''}$, $H_{C'}$
H_B	4.89	d 5,0 ^3J mit H_D
		d 2,0 ^3J mit H_E
		d 1,5 ^4J mit H_C
		d 0,5 ^4J mit H_A
H_E	4.66	d 2,0 ^3J mit H_B
$H_{E'}$	4.38	d 7,5 ^3J mit $H_{B'}$
3a,b-H_2 (Triazolam)	4.20/ 5.26	d 13,0 ^2J mit 3a-H bzw.3b-H
$^+N(CH_3)_4$	3.08	
H_2O	2.59	
13-H_3	2.52	
13-$H_{3'}$	2.51	
CHD_2CN	1.93	

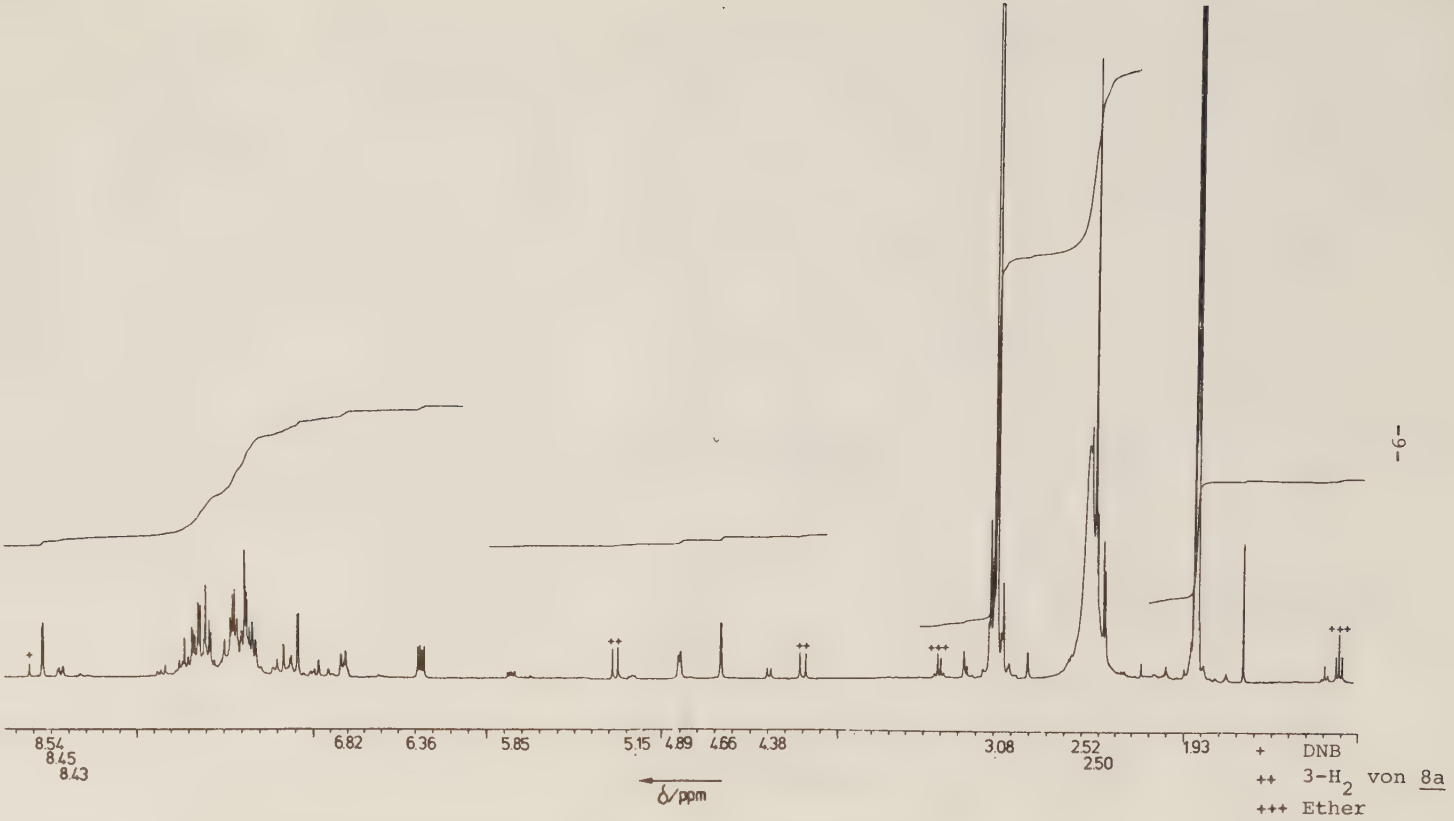


Abb. 1: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von Triazolam (8a) in CD_3CN

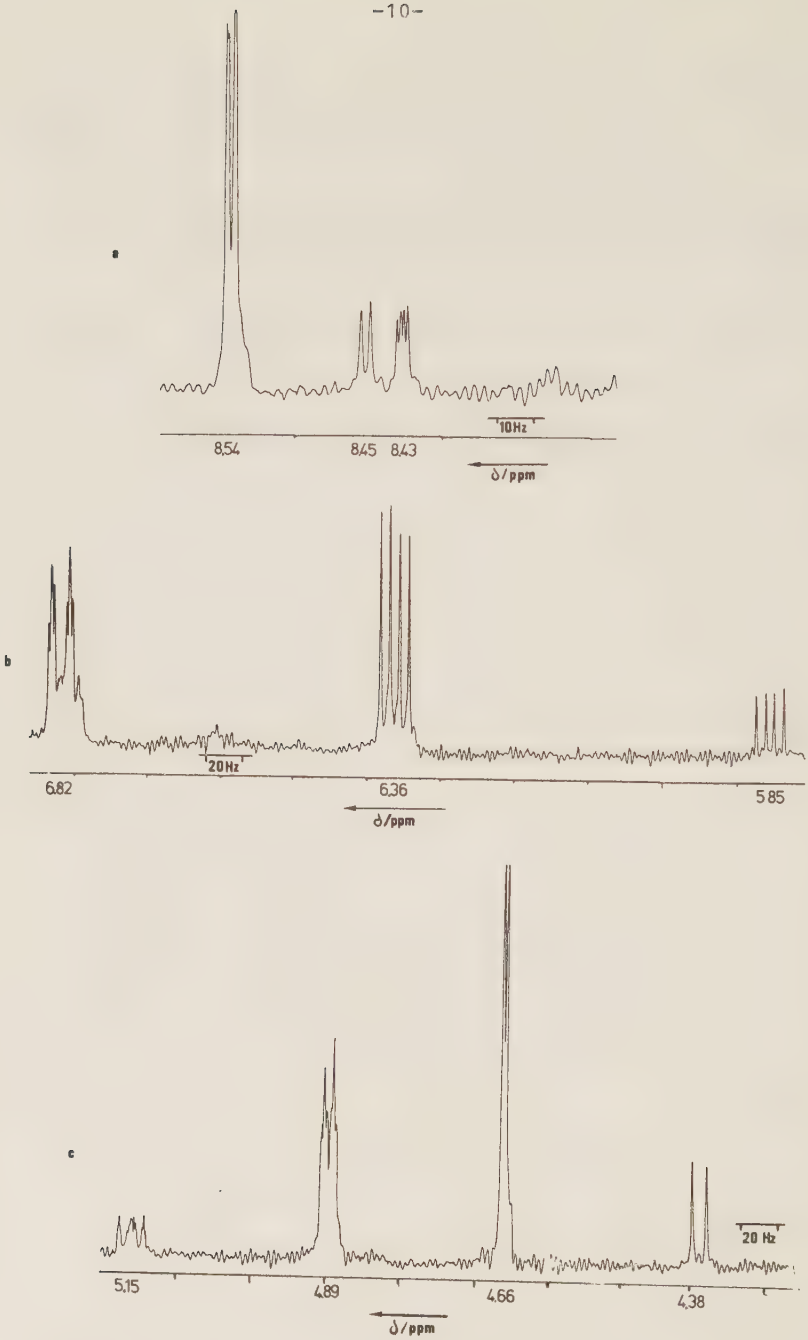


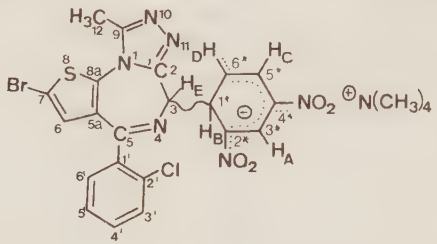
Abb. 2a-c: Gespreizte Teilspektren der Abbildung 1

Der Beweis für das Vorliegen eines MEISENHEIMER Salzes wird durch die Signale für H_B und H_E im Aliphatenbereich bei 4.89 und 4.66 ppm erbracht.
Wie in 2b und c/d treten Verdopplungen im Verhältnis 75:25 ± 10% auf. Die Kopplungskonstanten sind weitgehend identisch mit denen von 1b und c/d, so daß man annehmen darf, daß die Winkel der einzelnen Protonen zueinander ähnlich wie im MEISENHEIMER Salz von Diazepam sind. Unterschiede sind jedoch bei den chemischen Verschiebungen der Protonen zu verzeichnen: Im Hauptprodukt 8b erscheinen H_B und H_D gegenüber 2b um 0.32 bzw. 0.30 ppm tieffeldverschoben. Der stärkste Entschirmungseffekt ist bei H_E zu erkennen, das bei 4.66 ppm im Gegensatz zu 4.02 ppm bei 2b in Resonanz tritt. H_A absorbiert nur leicht tieffeldverschoben bei 8.54 ppm. Im Gegensatz dazu wird H_C geringfügig abgeschirmt (um 0.06 ppm) und kann dem Signal bei 6.82 ppm zugeordnet werden.
Im Nebenprodukt wird H_E, ebenfalls stark entschirmt, es erscheint um 0.79 ppm tieffeldverschoben bei 4.38 ppm. Alle anderen Protonen des Nebenproduktes werden leicht entschirmt. Auffällig ist weiterhin das Auftreten dreifacher Signale für H_A. Diese werden auf Zersetzungsprodukte zurückgeführt, die durch die Verwendung von Chloroform bei der Isolierung entstehen.

2.2.2 MEISENHEIMER Salz (9b und c/d) von Brotizolam

Auch Brotizolam ist in Ether schlecht löslich, so daß zur Ausfällung des MEISENHEIMER Salzes die gleiche Methode wie bei Triazolam verwendet wurde. Im 400 MHz-Spektrum sind für das Ausgangsprodukt keine Signale zu erkennen (Tab. 3, Abb. 3 und 4).

Tab. 3: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von Brotizolam (9a) in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.55	d 2,0 ^4J mit H_C d 0,6 ^4J mit H_B
$H_{A''}$	8.48	d 2,2
$H_{A'}$	8.44	d 1,9 ^4J mit $H_{C'}$ d 1,0 ^4J mit $H_{B'}$
$H_{aromat.}$	7.5-7.2	
H_C	6.82	d 10,0 ^3J mit H_D d 2,0 ^4J mit H_A d 1,5 ^4J mit H_B
$H_{C'}$	verdeckt durch H_C	
$H_{C''}$	6.76	d 12,5 m
6-H	6.70	
6-H'	6.53	

Tab. 3 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_D	6.30	d 10,0 ^3J mit H_C d 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	ca. 5.8	
$H_{B''}$	5.21	d ca. 5-6 d ca. 1,5
$H_{B'}$	5.10	t 6-7 mit $H_{D''}$, $H_{E'}$ m
H_B	4.90	d 5 ^3J mit H_D m
H_E	4.81	d 2,25 ^3J mit H_B
$H_{E'}$	ca. 4.65	
$^+N(CH_3)_4$	3.08	
12-H_3	2.59	
12-$H_{3'}$	2.58	
H_2O	2.59	
CHD_2CN	1.93	

Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten unterscheiden sich kaum von dem MEISENHEIMER Salz 8a. Mit Ausnahme von H_C werden alle Protonen H_A bis H_E bzw. $H_{A'}$ bis $H_{E'}$ in Haupt- und Nebenprodukt tieffeldverschoben.
Die stärksten Entschirmungseffekte treten auch hier bei $H_{E'}$, $H_{E''}$, H_B und H_D auf. Das Verhältnis der Signale von Haupt- zu Nebenprodukt liegt bei 85:15 ± 10%. Die Signalverdopplungen sind z.T. nur andeutungsweise zu erkennen. Für H_A, H_B und H_C sind dreifache Signale auszumachen.

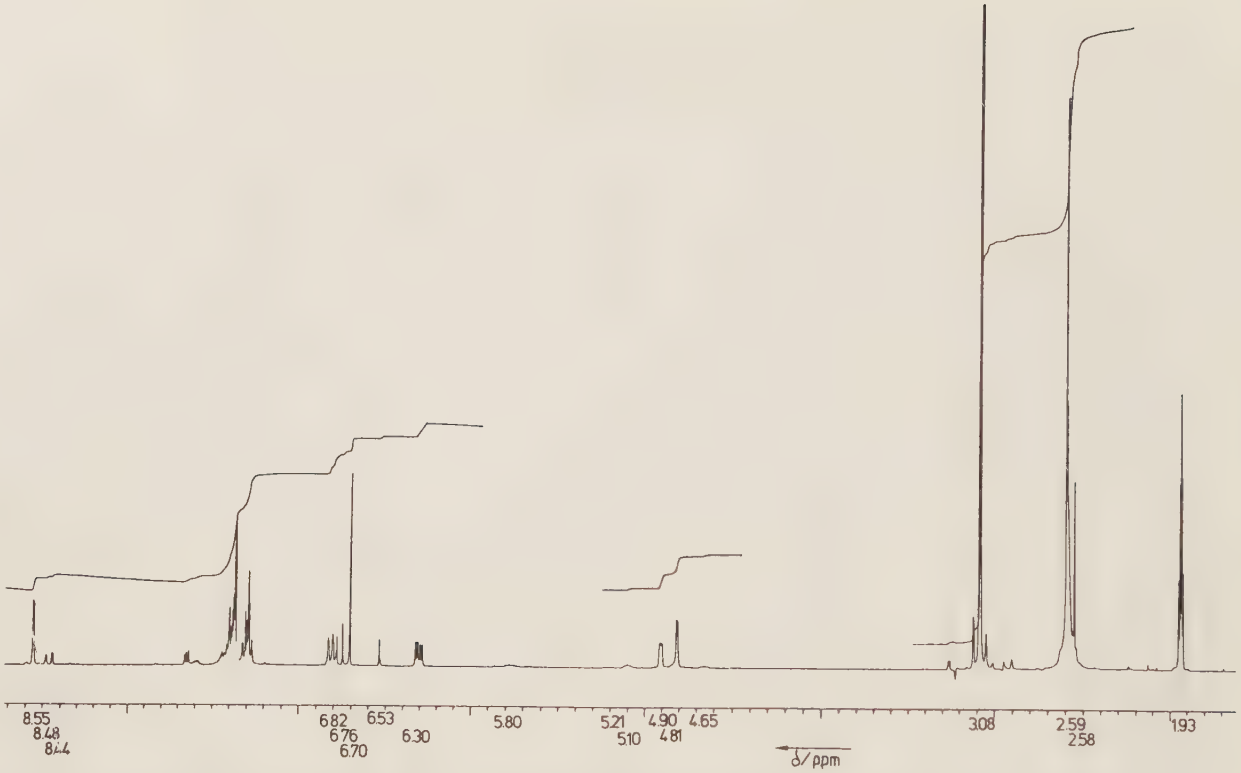
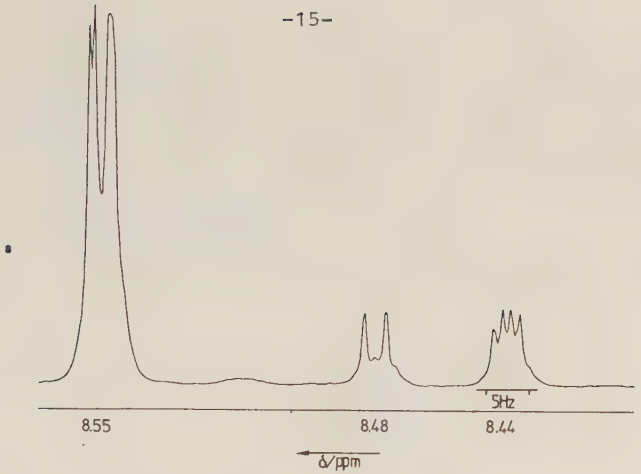
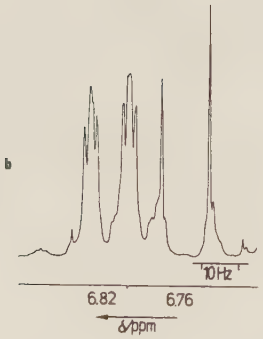
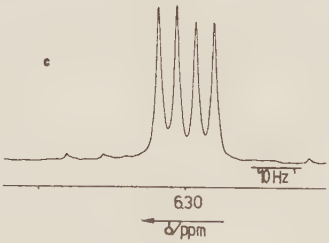


Abb. 3: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von Brotizolam (9a) in CD_3CN







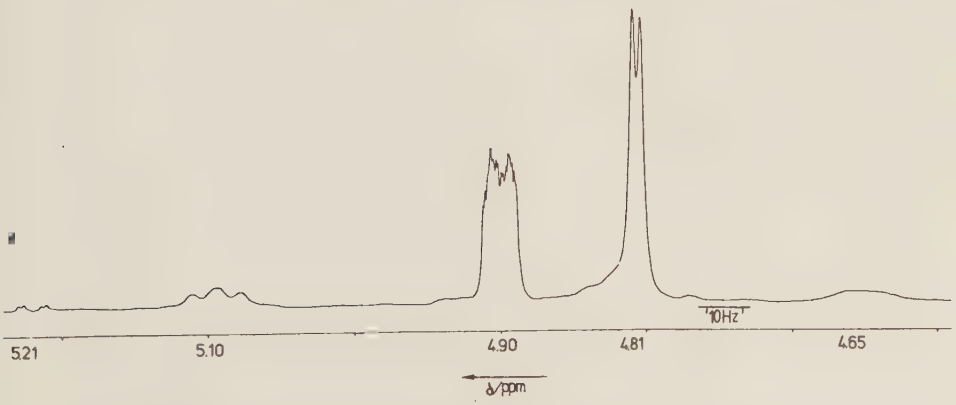
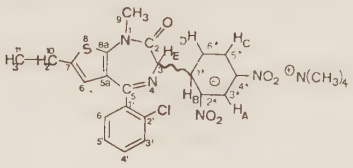


Abb. 4a-d: Gespreizte Teilspektren von Abb. 3

2.2.3 MEISENHEIMER Salz (10b und c/d) von Clotiazepam

Da sich Clotiazepam in Ether gut löst, konnte das MEISENHEIMER Salz nach der Methode von BIEGERT und LINDEN problemlos ausgefällt werden (Tab. 4 und Abb. 5 und 6).

Tab. 4: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von Clotiazepam (10a) in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
$H_{aromat.}$	7.5-7.2	
H_A	8.47	2,0 ^4J mit H_C
		0,5 ^4J mit H_B
$H_{A'}$	8.37	2,0 ^4J mit $H_{C'}$
		1,0 ^4J mit $H_{B'}$
H_B	4.63	5,0 ^3J mit H_D
		1,5 ^3J mit H_E
		1,5 ^4J mit H_C
		0,5 ^4J mit H_A
$H_{B'}$	4.89	7,5 ^3J mit $H_{E'}$
		5,5 ^3J mit $H_{D'}$
		1,0 ^4J mit $H_{A'}$
		0,5 ^4J mit $H_{C'}$
H_C	6.76	10,0 ^3J mit H_D
		2,0 ^4J mit H_A
		1,5 ^4J mit H_B

Tab. 4 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
$H_{C'}$	verdeckt durch H_C	
H_D	6.06	10,0 ^3J mit H_C 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	5.74	10,0 ^3J mit $H_{C'}$ 5,5 ^3J mit $H_{B'}$
H_E	4.21	1,5 ^3J mit H_B
$H_{E'}$	3.84	7,5 ^3J mit $H_{B'}$
6-H	6.14	1,0 ^4J mit 11-H_2
6-H'	6.18	1,0 ^4J mit 11-$H_{2'}$
9-H_3	3.44	
9-$H_{3'}$	3.40	
10-H_2	2.69	7,5 ^3J mit 11-H_3 1,0 ^4J mit 6-H
10-$H_{2'}$	2.67	7,5 ^3J mit 11-$H_{3'}$ 1,0 ^4J mit 6-H'
11-H_3	1.17	7,5 ^3J mit 10-H_2
11-$H_{3'}$	1.13	7,5 ^3J mit 10-$H_{2'}$
$^+N(CH_3)_4$	3.04	
H_2O	2.27	
CD_2HCN	1.93	

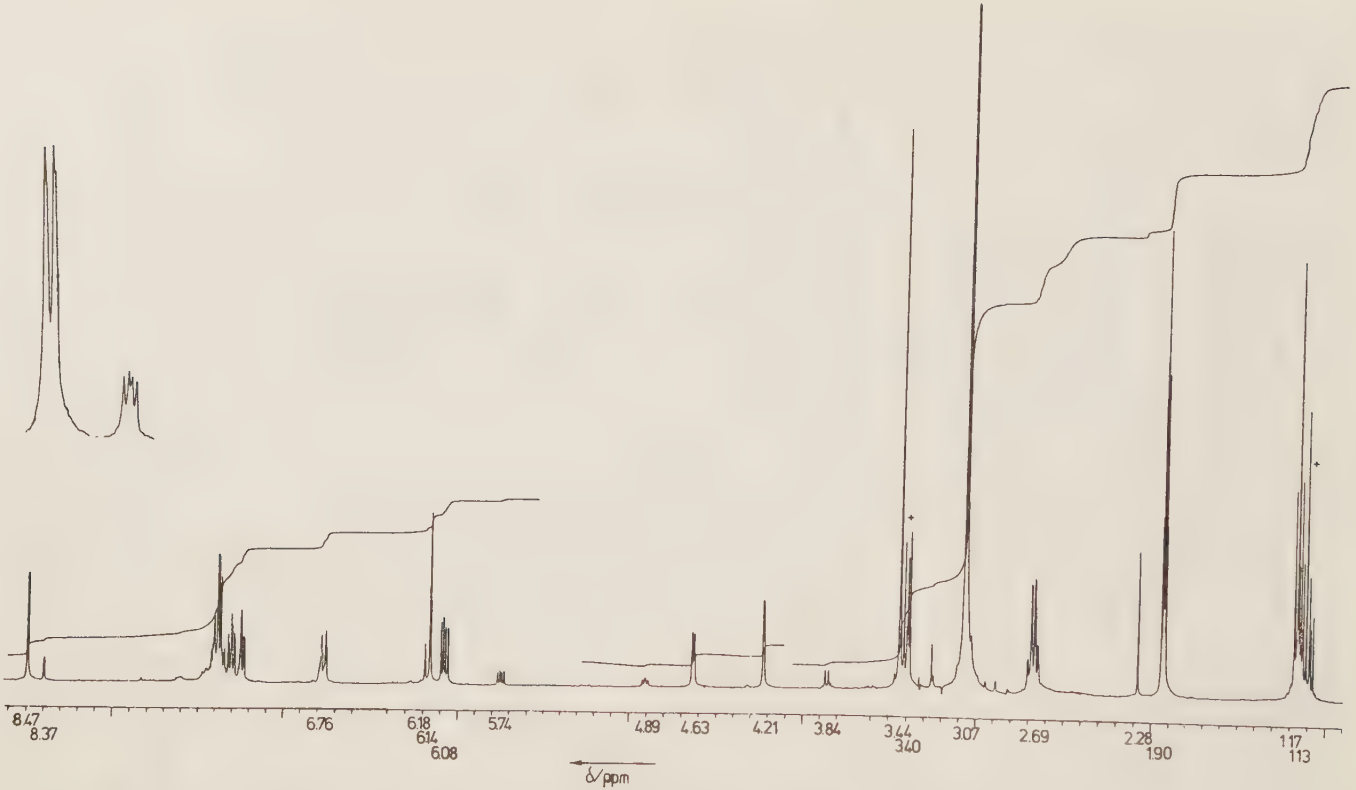


Abb. 5: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektren des MEISENHEIMER Salzes von Clotiazepam (10a) in CD_3CN

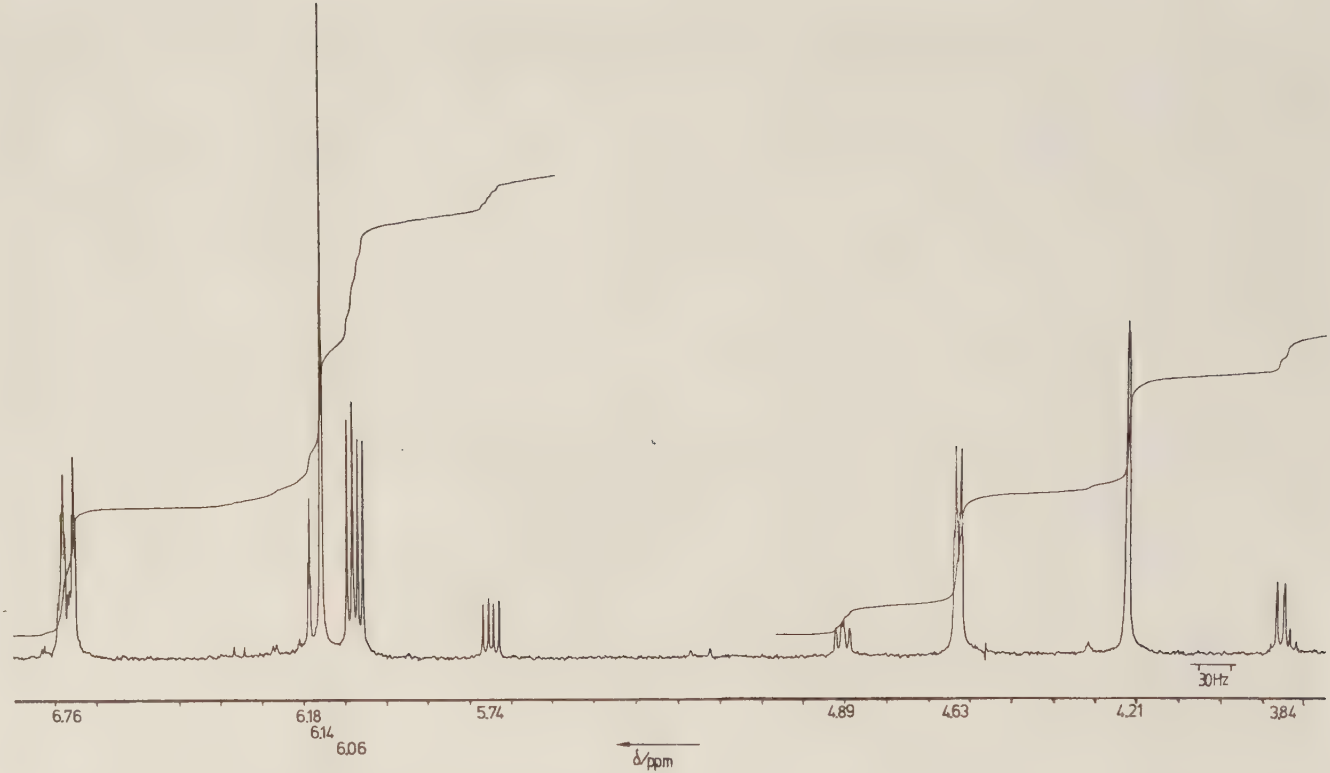


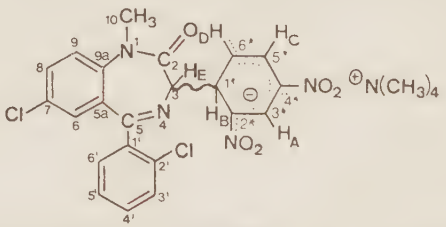
Abb. 6: Gespreizter Teilbereich von Abb. 5

Die Unterschiede in den chemischen Verschiebungen gegenüber 2b und 2c/d sind weniger ausgeprägt als bei den MEISENHEIMER Verbindungen von Triazolam und Brotizolam. Lediglich die Protonen H_E und $H_{E'}$ erscheinen entschirmt um 0.19 bzw. 0.25 ppm, während H_C um 0.14 ppm hochfeldverschoben absorbiert. $H_{B'}$ wird ebenfalls leicht abgeschirmt.
Das Verhältnis von Haupt- zu Nebenprodukt beträgt 80:20 ± 10% und liegt damit im Bereich der anderen MEISENHEIMER Salze. Verdreifachungen einzelner Signale sind nicht zu erkennen, da zur Isolierung kein Chloroform zugesetzt werden mußte.

2.2.4 MEISENHEIMER Salz (11b und c/d) von 2'-Chlordiazepam

2'-Cl-Diazepam löst sich nicht in ausreichendem Maß in Ether, sein MEISENHEIMER Salz konnte zwar nach der Methode von BIEGERT und LINDEN isoliert werden, jedoch war es nötig, Cl-Diazepam zuvor in einer geringen Menge Chloroform zu lösen und dann erst zu dem Ether-DNB-Gemisch zuzugeben (Tab. 5, Abb. 7 und 8).

Tab. 5: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von 2'-Chlordiazepam (11a) in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.47	d 2,0 ^{4}J mit H_C
$H_{A''}$	8.41	d 2,0
$H_{A'}$	8.36	d 2,0 ^{4}J mit $H_{C'}$
		d 1,2 ^{4}J mit $H_{B'}$
$H_{aromat.}$	7.9-6.9	

Tab. 5 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_C	6.79	d 10,2 ^3J mit H_D t 2,0 ^4J mit H_A, H_B
$H_{C'}$	6.75	d 10,0 ^3J mit $H_{D'}$ d 2,0 ^4J mit $H_{A'}$
H_D	6.06	d 10,2 ^3J mit H_C d 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	5.70	d 10,0 ^3J mit $H_{C'}$ d 5,5 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{B'}$	4.92	d ca. 8 ^3J mit $H_{E'}$ d ca. 5 ^3J mit $H_{D'}$ m
H_B	4.58	d 5,0 ^3J mit H_D angespalten durch H_C, H_E
H_E	4.13	d 1,25 ^3J mit H_B
$H_{E'}$	3.76	d 8,0 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{E''}$	3.69	s
3a,b-H_2 (Cl-Diazepam)	3.81/4.62	d 11,0 ^2J mit 3b-H bzw. 3a-H
10-H_3	3.36	
10-H_3'	3.34	
10-H_3"	3.32	
$^+N(CH_3)_4$	3.09	
H_2O	2.64	
CHD_2CN	1.93	

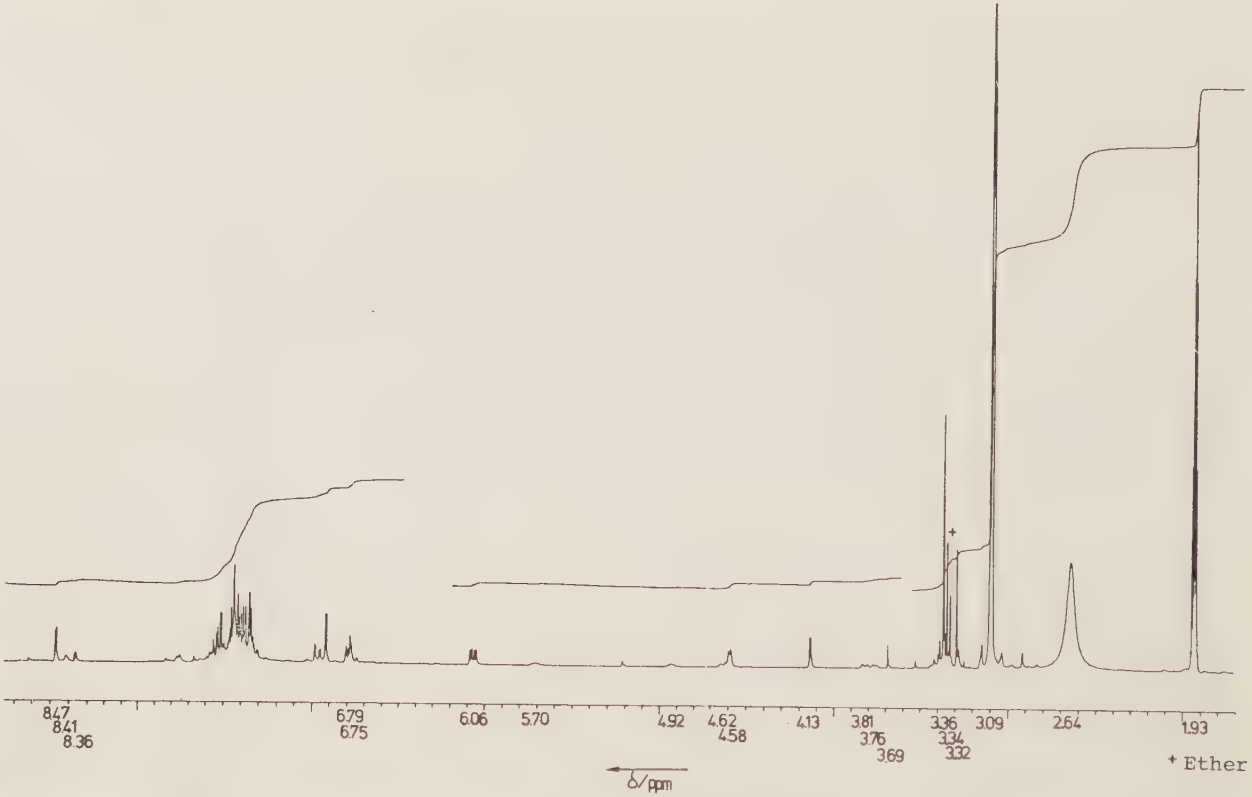


Abb. 7: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von 2'-Chlordiazepam (11a) in CD_3CN

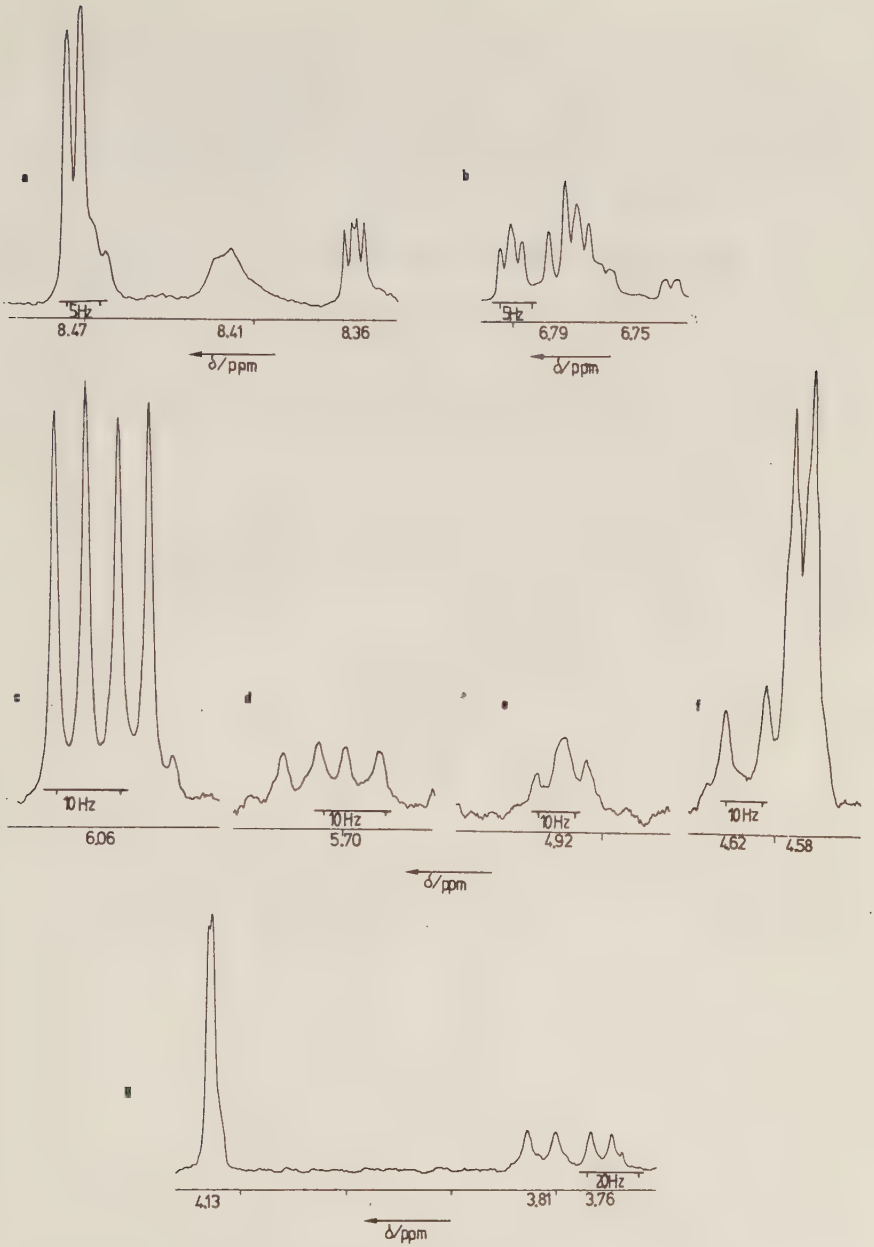


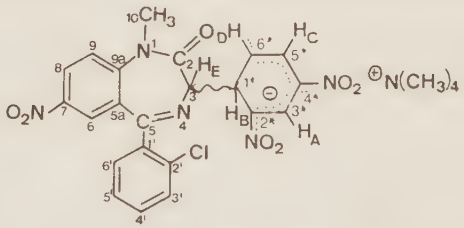
Abb. 8a-g: Gespreizte Signale von Abb. 7

Die chemischen Verschiebungen der einzelnen Protonen unterscheiden sich geringfügig von 2b und 2c/d. H_C und H_B, werden um jeweils 0.09 ppm abgeschirmt. H_E und H_E, treten tieffeldverschoben in Resonanz. Für einige Signale (H_A, H_E und 10-H_3) sind auch hier Verdreifachungen zu erkennen.

2.2.5 MEISENHEIMER Salz (12b und c/d) von N-1-Methylclonazepam

Als Vergleichssubstanz wurde N-1-Methylclonazepam durch N-Methylierung von Clonazepam synthetisiert. Zur Isolierung des MEISENHEIMER Salzes wurde es in Chloroform gelöst und der Ether-DNB-Mischung hinzugefügt. Im Anschluß wurde nach der Methode von BIEGERT und LINDEN weitergearbeitet (Tab. 6, Abb. 9 und 10).

Tab. 6: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von N-1-Methylclonazepam in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.48	d 2,0 ^{4}J mit H_C
$H_{A''}$	8.41	d 2,2 d 0,5
$H_{A'}$	8.38	d 2,0 ^{4}J mit $H_{C'}$ d 1,1 ^{4}J mit $H_{B'}$
8-H	8.30	d 9 ^{3}J mit 9-H m

Tab. 6 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
9-H	8.09	d 9,0 ^3J mit 8-H d 0,5 ^5J mit 6-H
$H_{aromat.}$	7.9-7.1	
H_C	6.81	d 10,0 ^3J mit H_D d 2,0 ^4J mit H_A d 1,8 ^4J mit H_B
$H_{C'}$	6.76	d 10,0 ^3J mit $H_{D'}$ d 2,0 ^4J mit $H_{A'}$ d 0,5 ^4J mit $H_{B'}$
H_D	6.04	d 10,0 ^3J mit H_C d 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	5.71	d 10,0 ^3J mit $H_{C'}$ d 5,5 ^3J mit $H_{B'}$ m
$H_{D''}$	5.66	d 10,0 d 5,0
$H_{B''}$	5.20	d 5 m
$H_{B'}$	4.95	d ca. 6 ^3J mit $H_{E'}$ d ca. 5,5 ^3J mit $H_{D'}$
H_B	4.62	d 5,0 ^3J mit H_D angespalten durch H_C, H_E

Tab. 6 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_E	4.17	S angespalten durch H_B
$H_{E'}$	3.84	d ca. 6 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{E''}$	3.71	S
10-H_3	3.44	
10-H_3'	3.42	
10-H_3"	3.40	
$^+N(CH_3)_4$	3.08	
H_2O	2.52	
CD_2HCN	1.93	

Für die Protonen H_A, H_B, H_D, H_E und 10-H_3 sind dreifache Signale zu erkennen.

H_C und H_B, erscheinen gegenüber dem MEISENHEIMER Salz von 2a leicht abgeschirmt, H_E und $H_{E'}$, hingegen um 0.15 bzw. 0.25 ppm entschirmt.

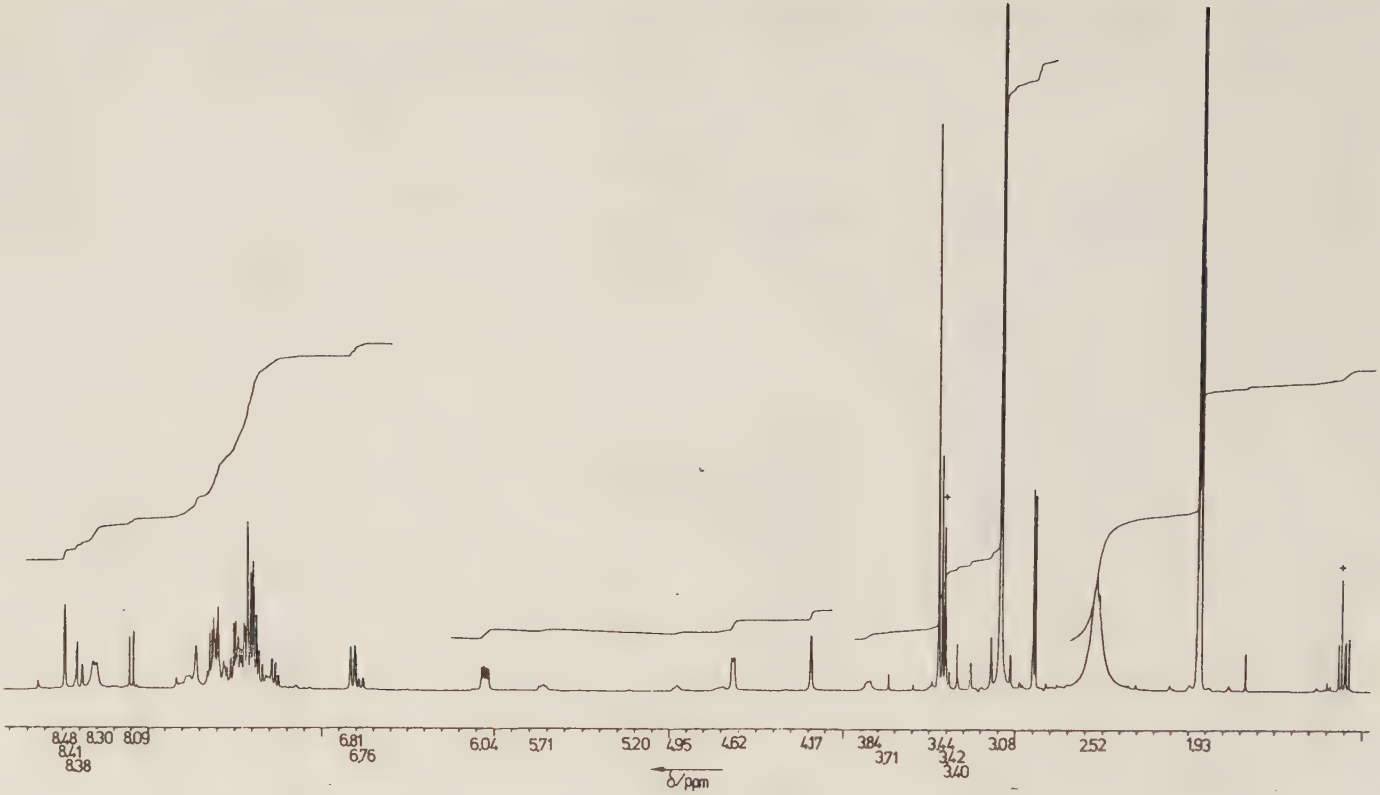


Abb. 9: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von N-1-Methyl-Clonazepam in CD_3CN

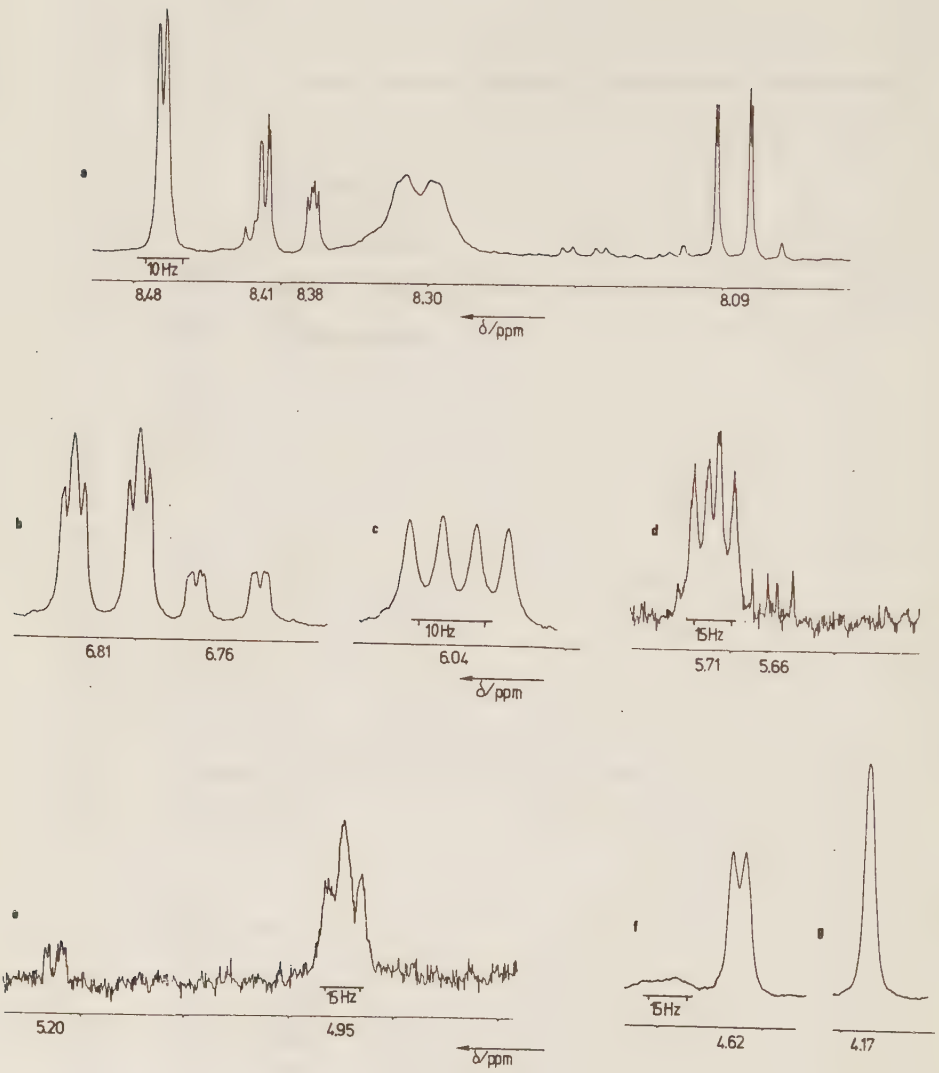
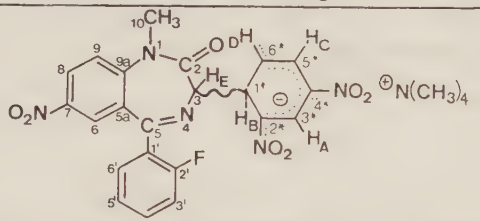


Abb. 10a-g: Gespreizte Signale von Abb. 9

2.2.6 MEISENHEIMER Salz (7b und c/d) von Flunitrazepam

Auch das MEISENHEIMER Salz von Flunitrazepam wurde unter Chloroform-Zusatz ausgefällt, um eine bessere Löslichkeit des Ausgangsproduktes zu erzielen (Tab. 7, Abb. 11 und 12).

Tab. 7: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von Flunitrazepam in CD_3CN (400 MHz)



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.49	d 1,8 ^{4}J mit H_C
$H_{A''}$	8.41	d 2,0
$H_{A'}$	8.36	d 2,0 ^{4}J mit $H_{C'}$ d 1,2 ^{4}J mit $H_{B'}$
8-H	8.32	d 9 ^{3}J mit 9-H m
9-H	8.10	d 9 ^{3}J mit 8-H
$H_{aromat.}$	8.0-7.0	
H_C	6.87	d 10,25 ^{3}J mit H_D t 1,8 ^{4}J mit H_A, H_B
$H_{C'}$	6.75	d 10,0 ^{3}J mit $H_{D'}$ d 2,0 ^{4}J mit $H_{A'}$
H_D	6.05	d 10,25 ^{3}J mit H_C d 5,25 ^{3}J mit H_B

Tab. 7 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
$H_{D'}$	5.72	d 10,0 ^3J mit $H_{C'}$ d 6,0 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{D''}$	5.65	d 10 d 6
$H_{B''}$	5.22	d 6 d 1,5
$H_{B'}$	5.00	d 7,5 ^3J mit $H_{E'}$ d 6 ^3J mit $H_{D'}$ angespalten durch $H_{A'}$
H_B	4.62	d 5,25 ^3J mit H_D angespalten durch H_C, H_E
H_E	4.10	S angespalten durch H_B
$H_{E'}$	3.73	d 7,25 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{E''}$	3.71	S
3a,b-H_2 (Flunitrazepam)	3.81/4.72	d 10,5 ^2J mit 3b-H bzw. 3a-H
10-H_3	3.41	
10-H_3'	3.40	
10-H_3"	3.38	
$^+N(CH_3)_4$	3.06	
H_2O	2.42	
CD_2HCN	1.93	

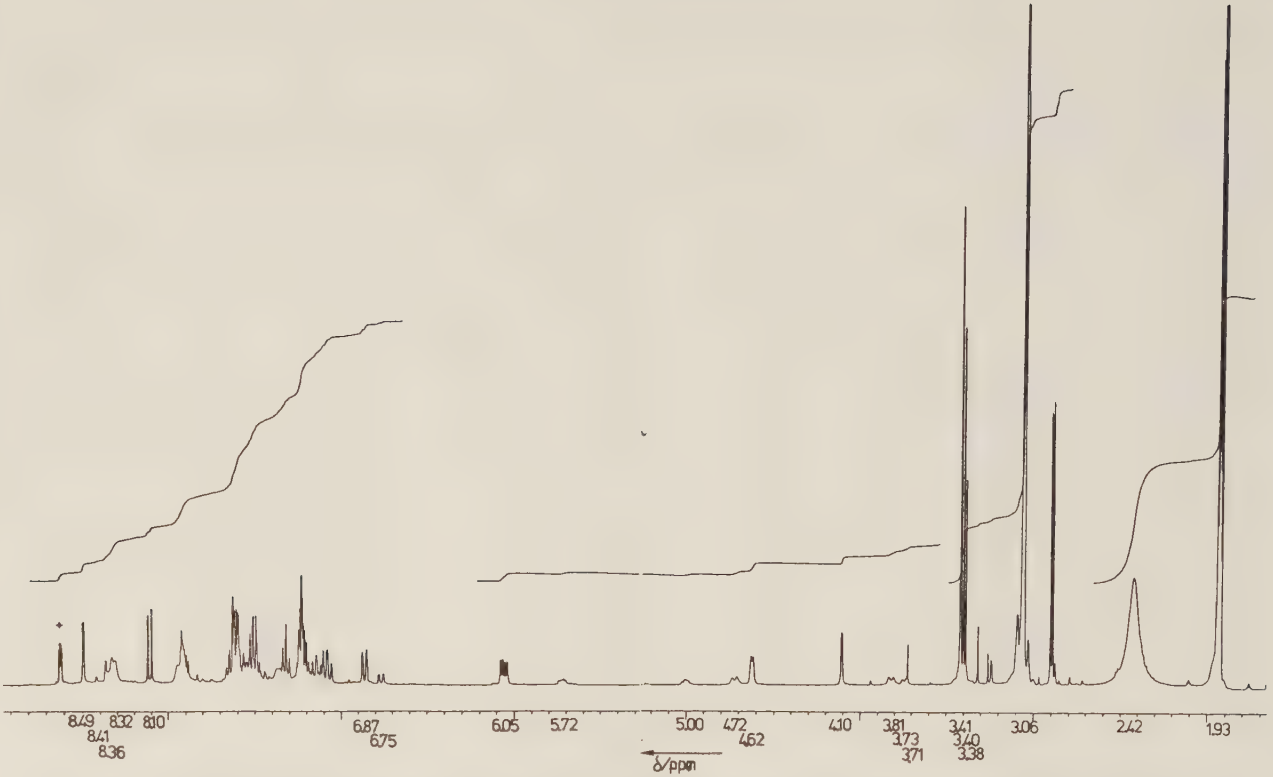


Abb. 11: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von Flunitrazepam (12a) in CD_3CN

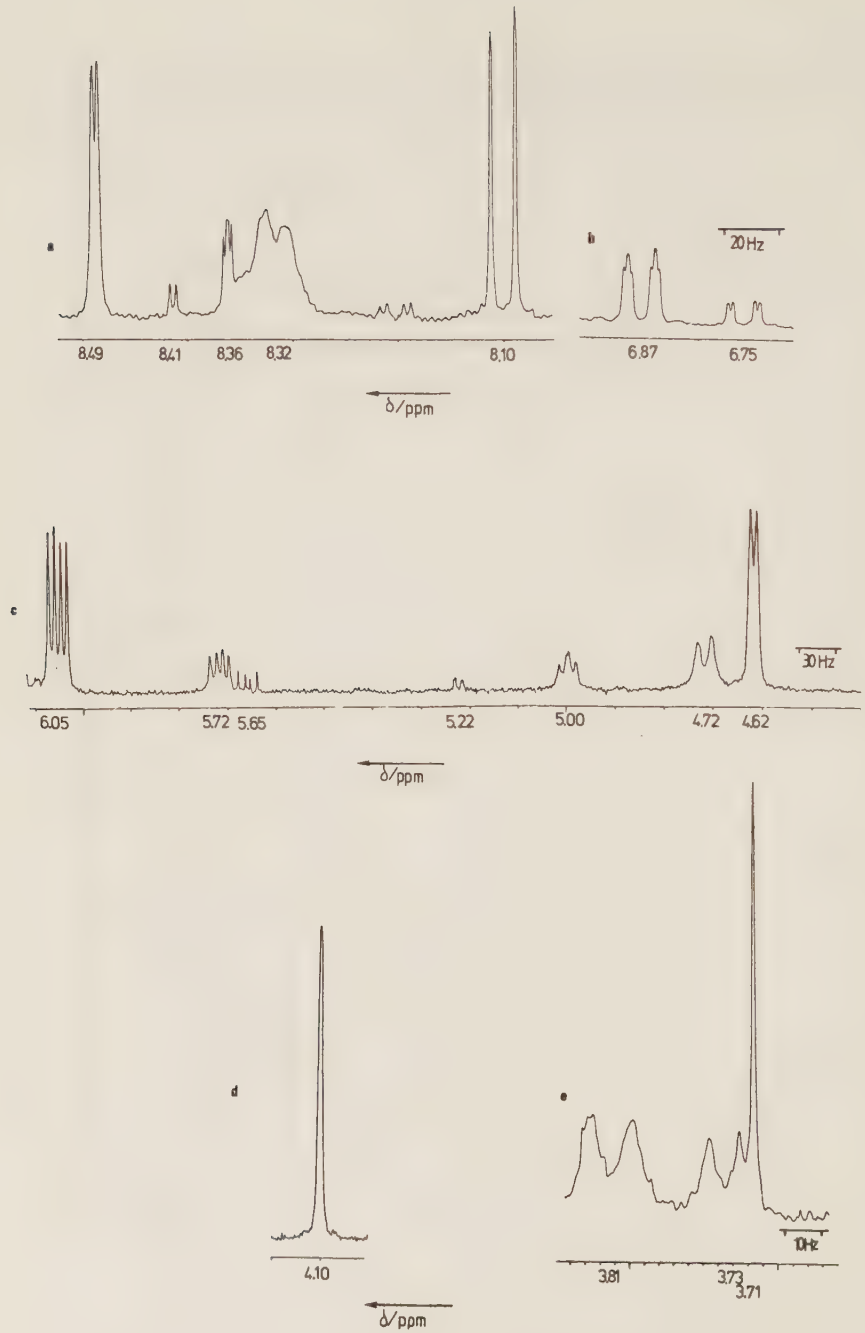
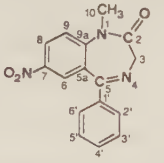


Abb. 12a-e: Gespreizte Teilspektren von Abbildung 11

Bei der MEISENHEIMER Verbindung von Flunitrazepam (7b und c/d) treten kaum Unterschiede zu 2b bzw. 2c/d auf. Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten gehen weitgehend mit den MEISENHEIMER Salzen von Diazepam und Prazepam konform.

2.2.7 MEISENHEIMER Salz (13b und c/d) von N-1-Methylnitrazepam

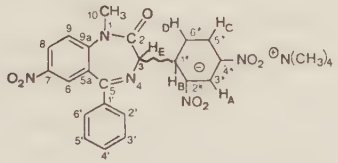
Das MEISENHEIMER Salz von N-1-Methylnitrazepam (13a) wurde als Vergleichssubstanz für die 7-Nitro-Benzodiazepine 12a und 7a hergestellt.



13a

Aufgrund der unzureichenden Löslichkeit in Ether wurde das Ausgangsprodukt ebenfalls in einer geringen Menge Chloroform gelöst (Tab. 8, Abb. 13 und 14).

Tab. 8: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des MEISENHEIMER Salzes von N-1-Methylnitrazepam



zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
H_A	8.48	d 1,9 ^{3}J mit H_C d 0,5 ^{3}J mit H_B
$H_{A''}$	8.37	d 2,2
$H_{A'}$	verdeckt durch 8-H 8-H'	

Tab. 8- Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
8-H	8.34	d 9,0 ^3J mit 9-H d 3,0 ^4J mit 6-H
8-H'	8.33	d 9,0 ^3J mit 9-H' d 3,0 ^4J mit 6-H'
6-H'	8.03	d 3,0 ^4J mit 8-H'
6-H	8.01	d 3,0 ^4J mit 8-H
9-H'	7.61	d 9,0 ^3J mit 8-H'
9-H	7,60	d 9,0 ^3J mit 8-H
$H_{aromat.}$	7.6-7.1	
H_C	6.90	d 10,0 ^3J mit H_D t 1,9 ^4J mit H_A, H_B
$H_{C'}$	6.75	d 10,0 ^3J mit $H_{D'}$ d 1,75 ^4J mit $H_{A'}$ angespalten durch $H_{B'}$
H_D	6.07	d 10,0 ^3J mit H_C d 5,0 ^3J mit H_B
$H_{D'}$	5.72	d 10,0 ^3J mit $H_{C'}$ d 6,0 ^3J mit $H_{B'}$
$H_{B'}$	5.03	d ca. 8 ^3J mit $H_{E'}$ d ca. 6 ^3J mit $H_{D'}$
H_B	4.60	d 5 ^3J mit H_D
H_E	4.05	d 1,5 ^3J mit H_B

Tab. 8 - Fortsetzung

zugeordnetes Proton	ppm	Kopplungskonstanten (Hz) mit Kopplungspartnern
$H_{E''}$	3.71	S
$H_{E'}$	3.65	d 8,0 ^3J mit $H_{B'}$
3a,b-H_2 (N-1-Methyl-Nitrazepam)	3.78/4.66	d 10,5 ^2J mit 3b-H bzw. 3a-H
10-H_3	3.39	
10-$H_{3''}$	3.38	
10-$H_{3'}$	3.37	
$^+N(CH_3)_4$	3.06	
H_2O	2.40	
CHD_2CN	1.94	

Die Ergebnisse decken sich weitgehend mit denen des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam. Haupt- und Nebenprodukt liegen im Verhältnis 75:25 ± 10% vor. Die Nitrogruppe an C-7 hat demnach keinen Einfluß auf die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten im MEISENHEIMER Salz. Für H_A, H_E und die 10-Methylgruppe sind dreifache Signale zu erkennen, die auf ein Zersetzungsprodukt hinweisen.

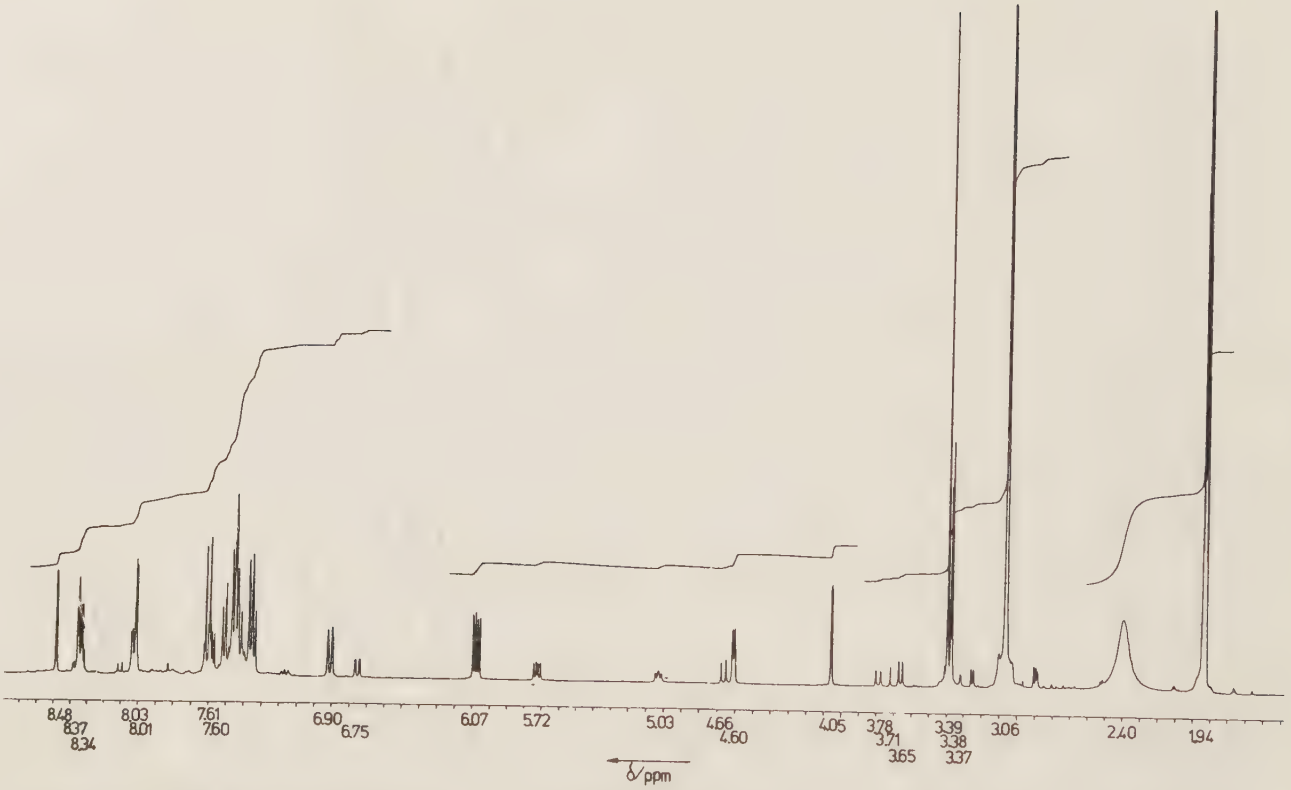


Abb. 13: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des MEISENHEIMER Salzes von N-1-Methyl-Nitrzaepam (13a) in CD_3CN

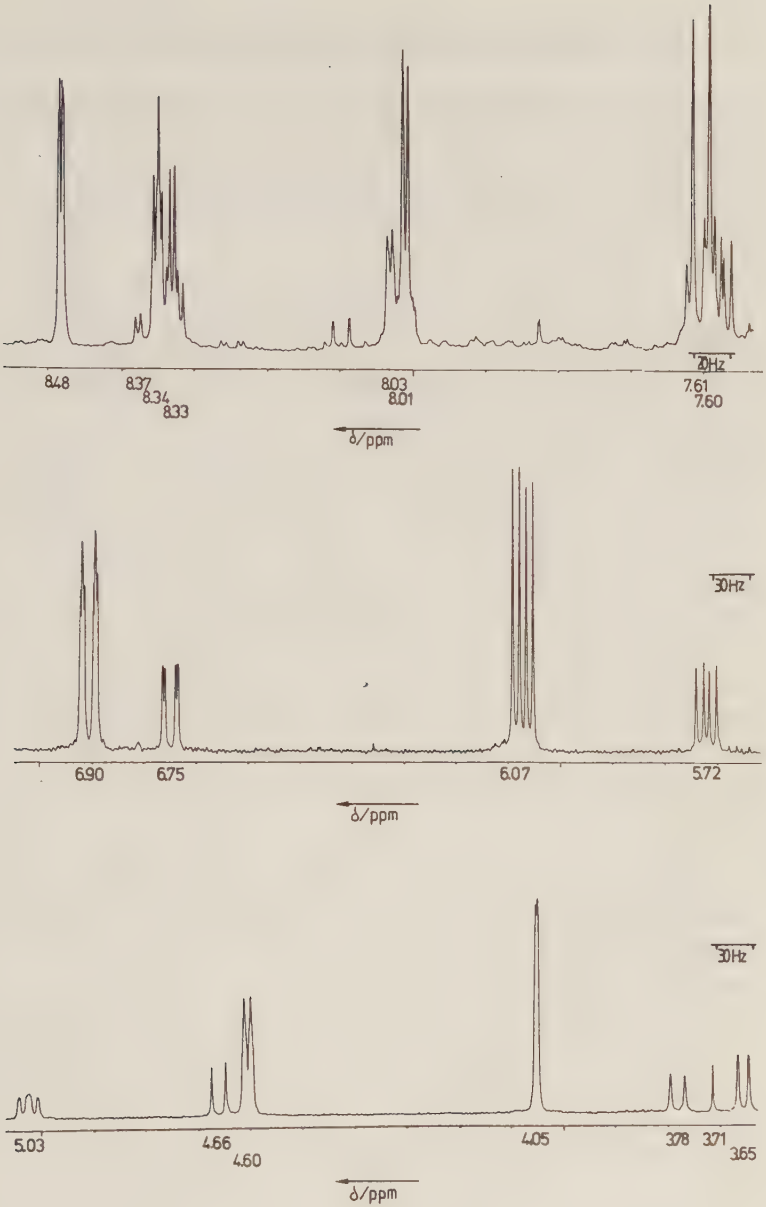


Abb. 14a-c: Gespreizte Teilspektren von Abb. 13

2.3 Diskussion der Ergebnisse

2.3.1 Kopplungskonstanten der untersuchten MEISENHEIMER Salze

Die Kopplungskonstanten der MEISENHEIMER Salze von 7a-13a unterscheiden sich nur minimal von den von LINDEN für 2a und 3a gefundenen Werten.
Die Konstanten für die Vicinalkopplung J_{BE} liegen zwischen 1 und 2,25 Hz. Nach KARPLUS und CONROY[19] kann daraus auf Diederwinkel von 85 ± 20° bzw. 85 ± 30° geschlossen werden.
Im Nebenprodukt der MEISENHEIMER Salze von 7a-13a betragen die vicinalen Kopplungskonstanten $J_{B'E'}$ 6-8 Hz. Die sich daraus ableitenden Diederwinkel liegen zwischen 0° und 55° bzw. 110° und 150° und gehen damit ebenfalls mit den Grenzwerten der MEISENHEIMER Salze von 2a und 3a konform.
Auch die Allylkopplungen, aus denen die räumliche Anordung von H_A und H_C zu H_B bzw. $H_{A'}$ und $H_{C'}$ zu $H_{B'}$ hervorgeht, decken sich mit den MEISENHEIMER Komplexen von 2a und 3a.
Im Hauptprodukt fällt der Betrag der Allyl-Kopplung J_{AB} (0,5 Hz) gegenüber der Allylkopplung J_{BC} (1-2 Hz) kleiner aus, da durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen H_E und C-2*-NO_2 die π-Bindungsordnung erniedrigt ist. Der Torsionswinkel zwischen H_B und H_C liegt nach BARFIELD[20] somit zwischen 20° und 40°.
Demgegenüber ist im Nebenprodukt der Torsionswinkel zwischen $H_{B'}$ und $H_{C'}$ vergrößert ($J_{B'C'}$ ca. 0,5 Hz), er beträgt 50°- 60°.
Der Betrag von $J_{A'B'}$ ist durch die Wechselwirkung der C-2-Carbonylgruppe bzw. Azomethin-Teilstruktur mit der C-2*-Nitrogruppe höher und liegt bei ca. 1 Hz.

Aus der Ähnlichkeit der Kopplungskonstanten der MEISENHEIMER Verbindungen von 7a-13a mit 2a und 3a kann geschlossen werden, daß die räumliche Anordnung der Protonen H_A - H_E und $H_{A'}$ - $H_{E'}$ vergleichbar ist.
Größere Unterschiede treten jedoch bei den chemischen Verschiebungen auf (Tab. 9).

2.3.2 Auswertung der chemischen Verschiebungen

Tab. 9: Vergleich der chemischen Verschiebungen der Protonen H_A - H_E und $H_{A'}$ - $H_{E'}$ in den Verbindungen 6 - 12 mit 2

MEISENHEIMER Verbindung von	H_A	H_B	H_C	H_D	H_E
Diazepam (2b)	8.47	4.57	6.88	6.08	4.02
Triazolam (8b)	8.54	4.89	6.82	6.36	4.66
Brotizolam (9b)	8.55	4.89	6.82	6.30	4.81
Clotiazepam (10b)	8.47	4.63	6.76	6.06	4.21
2'-Chlordiazepam (11b)	8.47	4.58	6.79	6.06	4.13
N-Methylclonazepam (12b)	8.48	4.62	6.81	6.04	4.17
Flunitrazepam (7b)	8.49	4.62	6.87	6.05	4.10
N-Methylnitrazepam (13b)	8.48	4.60	6.90	6.07	4.05
	$H_{A'}$	$H_{B'}$	$H_{C'}$	$H_{D'}$	$H_{E'}$
Diazepam (2c/d)	8.33	5.02	6.74	5.70	3.59
Triazolam (8c/d)	8.43	5.15	ca.6.82	5.85	4.38
Brotizolam (9c/d)	8.44	5.10	ca.6.82	ca.5.8	ca.4.65
Clotiazepam (10c/d)	8.37	4.89	ca.6.76	5.74	3.84
2'-Chlordiazepam (11c/d)	8.38	4.92	6.75	5.70	3.76
N-Methylclonazepam (12c/d)	8.38	4.95	6.76	5.71	3.84
Flunitrazepam (7c/d)	8.36	5.00	6.75	5.72	3.73
N-Methylnitrazepam (13c/d)	ca.8.34	5.03	6.75	5.72	3.65

2.3.2.1 MEISENHEIMER Salze von Triazolam und Brotizolam

Hauptprodukt:

Beim Vorliegen des Hauptproduktes in der von LINDEN[3] angegebenen Konformation 1b sollte H_E durch den Einfluß des Triazoloringes im Vergleich zum MEISENHEIMER Salz von Diazepam zu tieferem Feld verschoben werden. Für H_D, das von den Protonen des Dinitrocyclohexadienat-Restes dem Triazoloring am nächsten kommt, wäre ebenfalls eine starke Tieffeldverschiebung zu erwarten. Die Entschirmung sollte dagegen bei H_A, H_B und H_C weniger ins Gewicht fallen, da sie sich in größerer Entfernung zum Triazoloring befinden.

Bei den Verbindungen 8b und 9b tritt für H_E die erwartete Tieffeldverschiebung auf (0.64 bzw. 0.79 ppm). Sie wirkt sich beim MEISENHEIMER Salz von Brotizolam durch den zusätzlichen Einfluß des Thiophenringes noch stärker aus. Im Vergleich mit dem axial stehenden Proton der 3-H_2-Gruppe in den Ausgangsverbindungen Triazolam und Brotizolam erscheint H_E zusätzlich entschirmt, so daß wie bei 2b vom Vorliegen einer Wasserstoffbrücke zwischen H_E und der Nitro-Gruppe an C-2* ausgegangen werden kann.

Entgegen den Erwartungen tritt die zweitstärkste Tieffeldverschiebung bei H_B auf. Es absorbiert in 8b und 9b bei 4.89 ppm im Gegensatz zu 4.57 ppm bei 2b. H_B steht damit dem Triazoloring näher als die Protonen H_A und H_C, die durch den Heterocyclus nur geringfügig beeinflußt werden.

Die von LINDEN[3] zur Diskussion gestellte Konformation 1b muß daher insoweit korrigiert werden, als H_B bei gleicher Anordnung aller anderen Protonen in die Richtung des Triazoloringes zeigt (Abb. 8).

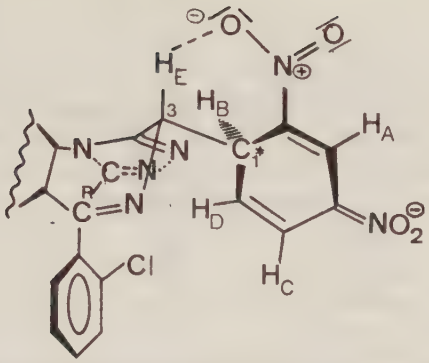


Abb. 8: Konformation des Hauptproduktes in den MEISENHEIMER Salzen von Brotizolam und Triazolam
Konfiguration 3S, 1*S

H_D unterliegt ebenfalls dem entschirmenden Einfluß des Triazoloringes und wird um 0.28 bzw. 0.22 ppm zu tieferem Feld verschoben. H_C hingegen erfährt durch den in Richtung C-3 weisenden[21] 2'-Chlor-Substituenten eine leichte Abschirmung.

Nebenprodukt:

H_E, erscheint wie im Hauptprodukt, gegenüber H_E, von 2c/d durch den Triazolo- bzw. Triazolo- und Thiophenring deutlich tieffeldverschoben. Da keine Wasserstoffbrücke gebildet wird, findet jedoch keine zusätzliche Entschirmung statt. Die Protonen H_A, - H_D, sind weniger verändert als im Hauptprodukt. Die paramagnetischen Verschiebungen liegen zwischen 0.08 und 0.15 ppm und werden wiederum durch den Triazoloring hervorgerufen. Beim Vorliegen des Nebenproduktes in der Konformation 1d bzw. 8d, 9d (Abb. 9) (Diederwinkel H_E zu H_B zwischen 0 und 55°) wäre allerdings zu erwarten, daß H_C durch 2'-Cl abgeschirmt wird, während H_B, und H_D, durch die räumliche Nähe zum Triazoloring stärker, nämlich in ähnlichem Ausmaß wie H_B und H_D entschirmt werden sollten.

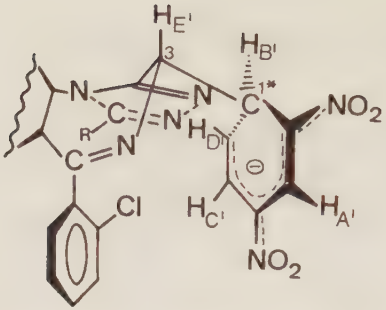


Abb. 9: Konformation des Nebenproduktes mit einem Diederwinkel zwischen $H_{E'}$ und $H_{B'}$ von 0 - 55°
Konfiguration 3S, 1*S

Da dies nicht der Fall ist, kann davon ausgegangen werden, daß das Nebenprodukt in der Konformation 1c bzw. 8c, 9c (Abb. 10) vorliegt.

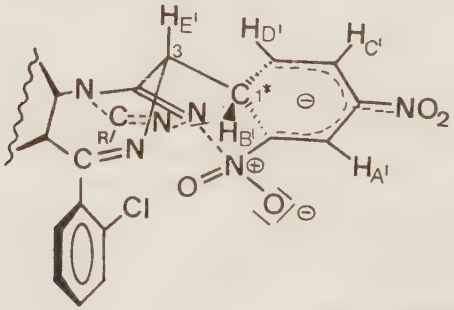
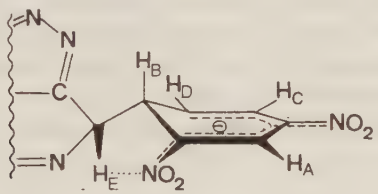


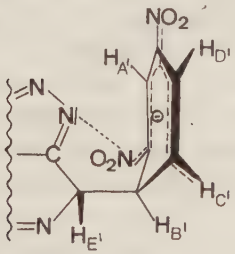
Abb. 10: Konformation des Nebenproduktes mit einem Diederwinkel zwischen $H_{E'}$ und $H_{B'}$ von 110 - 150°
Konfiguration 3S, 1*S

In den MEISENHEIMER Salzen von Triazolam und Brotizolam liegt C-1* in Haupt- und Nebenprodukt in der S-Konfiguration vor, es bilden sich Rotationsisomere.

Das Auftreten von Rotationsisomeren ist bei MEISENHEIMER Verbindungen nicht unbekannt. So wurden beim MEISENHEIMER Salz von Tetryl Verdopplungen der Signale beobachtet[22,23]. Entlang der C-3/C-1*-Bindungsachse wird die Rotation durch sterische Hinderung zwischen der Nitrogruppe an C-2* und dem Triazoloring eingeschränkt. Die unterschiedlichen Allylkopplungen in Haupt- und Nebenprodukt lassen sich dadurch erklären, daß der Dinitrocyclohexadienatrest umklappt, und H_B im Hauptprodukt eine eher axiale, H_B, im Nebenprodukt hingegen eine pseudoäquatoriale Stellung einnimmt.



Anordnung der Protonen H_A - H_E im Hauptprodukt



Anordnung der Protonen $H_{A'}$ - $H_{E'}$ im Nebenprodukt

Dadurch wird der Torsionswinkel von $H_{B'}$ gegenüber H_B vergrößert und die Allylkopplungen unterschiedlich.
Das gelegentliche Auftreten von dreifachen Signalen ist auf ein Zersetzungsprodukt des MEISENHEIMER Salzes zurückzuführen, das dadurch zustande kommt, daß die Isolierung unter Chloroform-Zusatz vorgenommen wurde.

2.3.2.2 MEISENHEIMER Salz von Clotiazepam

Die Unterschiede in den chemischen Verschiebungen gegenüber 2b und c/d sind bei dem MEISENHEIMER Salz von Clotiazepam weniger kraß als bei den Verbindungen 8b/c und 9b/c.

Hauptprodukt:

H_E erscheint um 0.19 ppm bei tieferem Feld, da es, wie im Ausgangsprodukt Clotiazepam, dem entschirmenden Einfluß des Thiophenringes unterliegt. Aus dem gleichen Grund tritt H_B leicht entschirmt bei 4.63 ppm in Resonanz. Die Tieffeldverschiebungen fallen kleiner aus als bei 9b, da der zusätzliche Entschirmungseffekt des Triazoloringes fehlt. H_A und H_D absorbieren praktisch unverändert bei 8.47 bzw. 6.06 ppm. H_C erfährt eine Hochfeldverschiebung von 0.12 ppm, die auf den abschirmenden Einfluß des 2'-Cl-Atoms zurückgeführt werden kann.

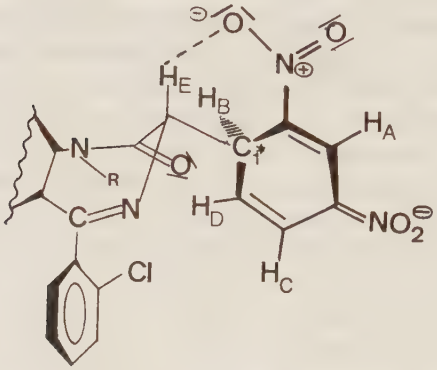
Nebenprodukt:

Auch im Nebenprodukt wirkt sich der Thiophenring in einer Tieffeldverschiebung von H_E, gegenüber H_E, in 2c/d aus. H_B, wird durch das Chlor-Atom in 2'-Stellung um 0.12 ppm abgeschirmt und erscheint bei 4.89 ppm. Die anderen Protonen des Dinitrocyclohexadienatrestes zeigen kaum Veränderungen.
Der Vergleich der Differenzen in den chemischen Verschiebungen von H_B und H_B, gegenüber 2b und c/d unterstützt die Theorie, daß H_B im Hauptprodukt in die Richtung der Carbonylgruppe, allgemein ausgedrückt nach hinten, zeigt. Stünde H_B wie im Nebenprodukt nach vorne, wäre mit einer Abschirmung durch 2'-Cl zu rechnen, wie sie im Nebenprodukt bei H_B, auftritt.
Wie bei den MEISENHEIMER Salzen von 8a und 9a kann für das Nebenprodukt die Konformation 1d ausgeschlossen werden, da in diesem Fall die Protonen H_C, und H_D, in der Nähe des Chlor-Substituenten angeordnet wären, und sich dessen diamagnetischer Einfluß bemerkbar machen sollte. H_B, hingegen würde beim Vorliegen der Konformation 1d nicht von dem Chlor-Atom beeinflußt.

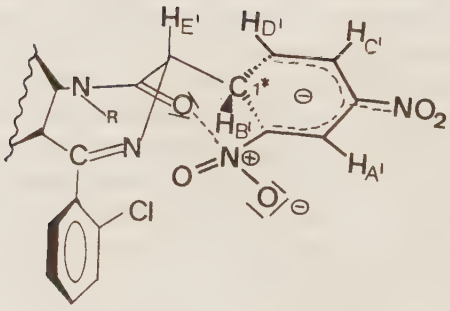
2.3.2.3 MEISENHEIMER Salze 2'-halogenierter Benzodiazepine

Der Einfluß des Chlor-Atoms in 2'-Stellung wird beim Vergleich des MEISENHEIMER Salzes von 2'-Chlordiazepam (11b und c/d) mit dem des Diazepams (2b und c/d) sowie von N-1-Methylclonazepam (12b und c/d) mit dem des N-1-Methylnitrazepams (13b und c/d) besonders deutlich.
Im Hauptprodukt 11b sind für die Protonen H_A, H_B und H_D praktisch keine Veränderungen gegenüber 2b zu bemerken. Der -I-Effekt des 2'-Chloratoms wirkt sich über die Azomethinfunktion hinweg in einer Tieffeldverschiebung von 0.11 ppm auf H_E aus. H_C wird durch die räumliche Nähe zu 2'-Chlor um 0.09 ppm hochfeldverschoben. Da H_B von 2'-Chlor unbeeinflußt bleibt, wird bewiesen, daß es auch hier vom Chlor-Phenylring weg in Richtung C-2-Carbonylgruppe weist.
Vergleicht man die chemischen Verschiebungen der Protonen von 12b mit 13b, so erhält man die gleichen Ergebnisse wie oben. H_E erscheint durch den -I-Effekt des Chloratoms um 0.12 ppm tieffeldverschoben, während H_C ebenfalls um 0.09 ppm bei höherem Feld in Resonanz tritt.
Im Nebenprodukt 11c/d und 12c/d wird $H_{E'}$, im Vergleich zur jeweiligen Des-Chlor-Verbindung um 0.17 bzw. 0.19 ppm tieffeldverschoben.
$H_{B'}$, wird in beiden Fällen abgeschirmt, während die anderen Protonen nur geringen Veränderungen unterliegen. Damit kann das Nebenprodukt 1c auch für die MEISENHEIMER Verbindungen von 11a und 12a als gesichert gelten.
Im MEISENHEIMER Salz von Flunitrazepam (7b und c/d) wirkt sich das F-Atom an C-2' über seinen -I-Effekt auf die chemische Verschiebung von H_E und $H_{E'}$ aus. Die Protonen H_A - H_D und $H_{A'}$ - $H_{D'}$ werden zwar qualitativ gleichartig beeinflußt wie in den 2'-Chlorderivaten, jedoch kommt der Abschirmungseffekt des Fluoratoms aufgrund des kleineren Atomdurchmessers nur wenig zum tragen.

Aufgrund dieser Ergebnisse darf für das Hauptprodukt der MEISENHEIMER Salze der genannten Verbindungen die Konformation 1b', für das Nebenprodukt die Konformation 1c als gesichert gelten.



1b'



1c

3 Farbsalze von Benzodiazepinen mit Lauge

3.1 Clonazepam und Bromazepam

3.1.1 Elektronenspektroskopische Untersuchungen

Elektronenspektren von Benzodiazepinen weisen in der Regel drei Maxima bei etwa 215, 250 und 300 nm auf. Nach BARRETT, SMYTH und DAVIDSON[24] können sie als überlagerte Spektren zweier unterschiedlich substituierter Benzolringe interpretiert werden. Demnach kommt das bei 215 nm auftretende Maximum durch die in den längerwelligen Bereich verschobene ß-Bande von Benzol bei 180 nm zustande. Das Maximum bei mittlerer Wellenlänge (240-250 nm) wird dem mono- bzw. disubstituierten Ring C zugeordnet. Es entsteht aus der p-Bande des Benzols (203,5 nm) durch den bathochromen Effekt der Azomethingruppe. Auch das Maximum bei ca. 300 nm resultiert aus der p-Bande von Benzol. Es kommt jedoch durch die bathochromen Effekte des dreifachsubstituierten Ringes A zustande. Obwohl die Verschiebungen der $\mathcal{L}$-Bande (254 nm) von Benzol ähnlicher Art sind, kommen diese in den Spektren der Benzodiazepine nicht zum Ausdruck, da die $\mathcal{L}$-Bande von geringerer Intensität ist und von den anderen Maxima größerer Intensität überlagert ist. Ihre Interpretation unterstützen die genannten Autoren durch Vergleich mit Spektren entsprechend monosubstituierter Vergleichssubstanzen.

In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen können die in Clonazepam bei 217 und 307 nm auftretenden Maxima ($\mathcal{E}$ = 29 360 bzw. 11 520) dem 180 bzw. 203,5 nm-Maximum von Benzol zugeordnet werden. Das Maximum bei 242 nm ($\mathcal{E}$ = 14 800) resultiert aus dem disubstituierten Phenylring C (Abb. 15).

Unter Laugenzugabe verschiebt sich das Maximum von ursprünglich 307 nm auf 372 nm ($\mathcal{E}$ = 17 280). Die Rotverschiebung ist mit einem hyperchromen Effekt verbunden und entsteht aufgrund zusätzlicher Mesomeriemöglichkeiten durch Delokalisierung des durch die Protonenabspaltung freien Elektronenpaares von N-1.

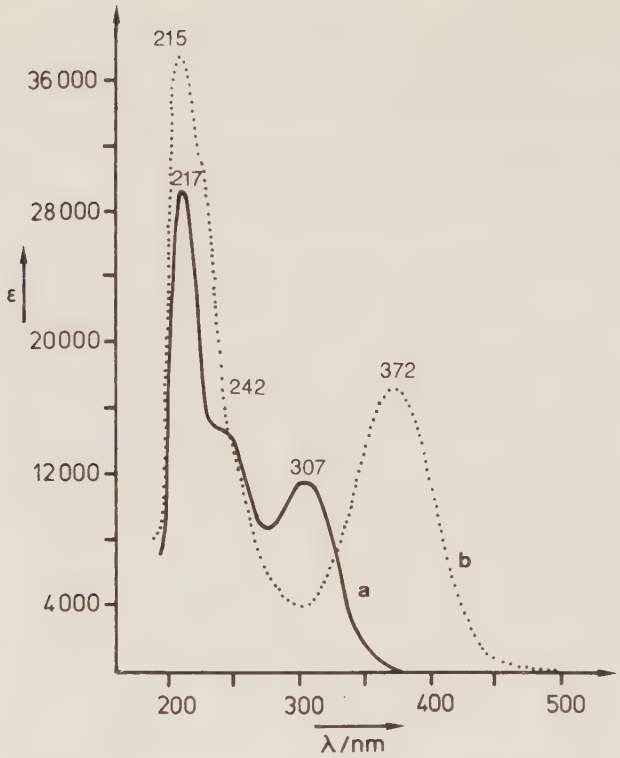


Abb. 15: Elektronenspektrum von Clonazepam (5a)
a) in abs. Ethanol
b) unter Zusatz von ethanol KOH

Die Maxima von Bromazepam (6a) liegen in Ethanol bei 232 und 318 nm (ε = 33 220 bzw. 1 945). Versetzt man mit ethanol. KOH, so verschiebt sich das 318 nm-Maximum um 45 nm in den längerwelligen Bereich (Abb. 16). Wie bei Clonazepam ist dies mit einem hyperchromen Effekt verbunden: Der ε-Wert bei 363 nm beträgt 2 750. Die Rotverschiebung ist ebenfalls durch erweiterte Mesomeriemöglichkeiten zu erklären. Ferner fällt auf, daß die Intensität der Färbung geringer ist als bei Clonazepam nach Alkalizusatz. Der p-ständige Bromsubstituent hat, im Gegensatz zur Nitrogruppe, außer einem -I- auch einen +M-Effekt. Die Delokalisierung der negativen Ladung ist aus diesem Grund weniger stark.

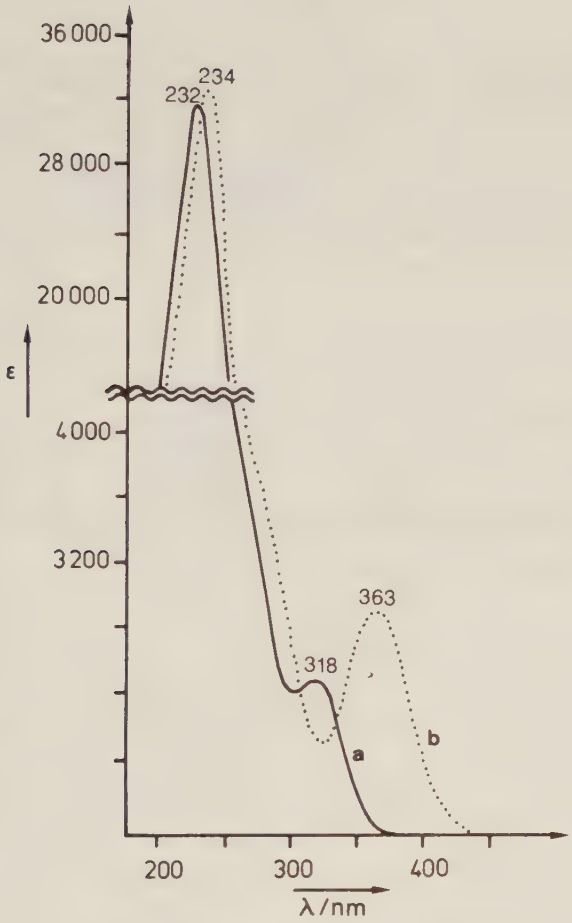


Abb. 16: Elektronenspektrum von Bromazepam (6a)
a) in abs. Ethanol
b) unter Zusatz von ethanol. KOH

3.1.2 ^{13}C-spektroskopische Untersuchungen

157, 9 mg (0,5 mmol) Clonazepam bzw. 158,1 mg (0,5 mmol) Bromazepam wurden mit 10 Tropfen 3 N-NaOD versetzt und in 1,0 ml DMSO-d_6 gelöst. Die gelbe Lösung wurde sofort vermessen (Tab. 10 und 11, Abb. 17 - 20).

Tab. 10: Vergleich der ^{13}C-Resonanzen des Natriumsalzes von Clonazepam (5b) mit Clonazepam (5a)[25] in DMSO-d_6

zugeordnetes C-Atom	ppm (5a)	ppm (5b)	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten Hz (5b)	$\Delta\delta$
C-2	169.2	169.2	S t 5 mit 3-H_2	±0
C-5	167.9	168.2	S m	+0.3
C-9a	144.2	153.7	S t 8 mit 6,8-H_2	+9.5
C-7	141.6	139.1	S d 6 mit 9-H	-2.5
C-1'	137.9	138.4	S m	+0.5
C-2'	131.8	132.6	S t 7 mit 4'6'-H_2	+0.8
C-4'	131.4	132.0[x]	D 164 mit 4'-H d 8 mit 6'-H	+0.6
C-6'	131.4	131.6[x]	D 164 mit 6'-H d 8 mit 4'-H	+0.2
C-3'	129.7	130.2	D 166 mit 3'-H d 6 mit 5'-H	+0.5
C-5'	127.4	127.9	D 163 mit 5'-H d 6 mit 3'-H	+0.5
C-5a	126.9	126.5	S d 6 mit 9-H	-0.4
C-8	126.3	126.2[xx]	D 166 mit 8-H d 5 mit 6-H	-0.1
C-6	124.9	125.6[xx]	D 160 mit 6-H d 5 mit 8-H	+0.7
C-9	122.1	125.6	D 166 mit 9-H	+3.5
C-3	57.3	59.2	T 142 mit 3-H_2	+ 1.9

[x] [xx] Zuordung austauschbar

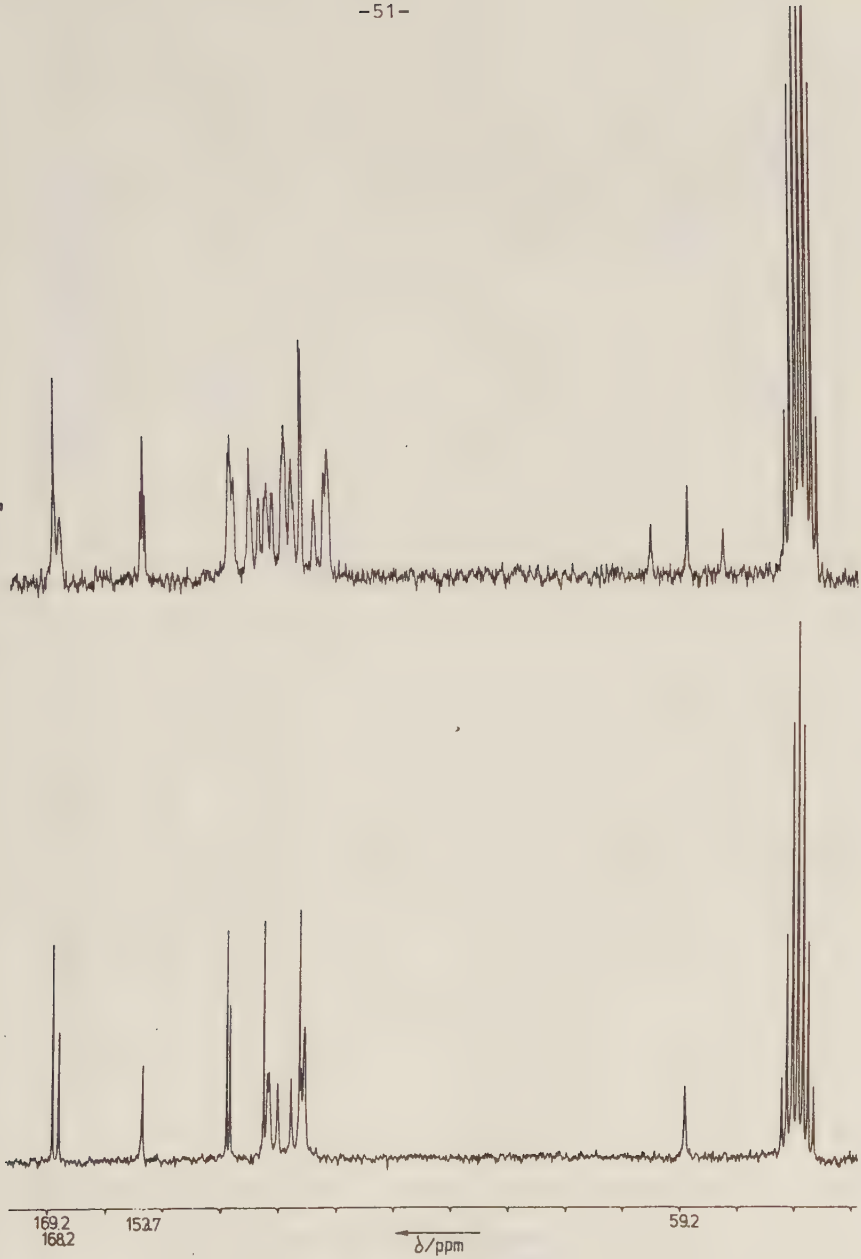


Abb. 17: ^{13}C-NMR-Spektrum des Natriumsalzes von Clonazepam (5b)
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) gekoppeltes Spektrum

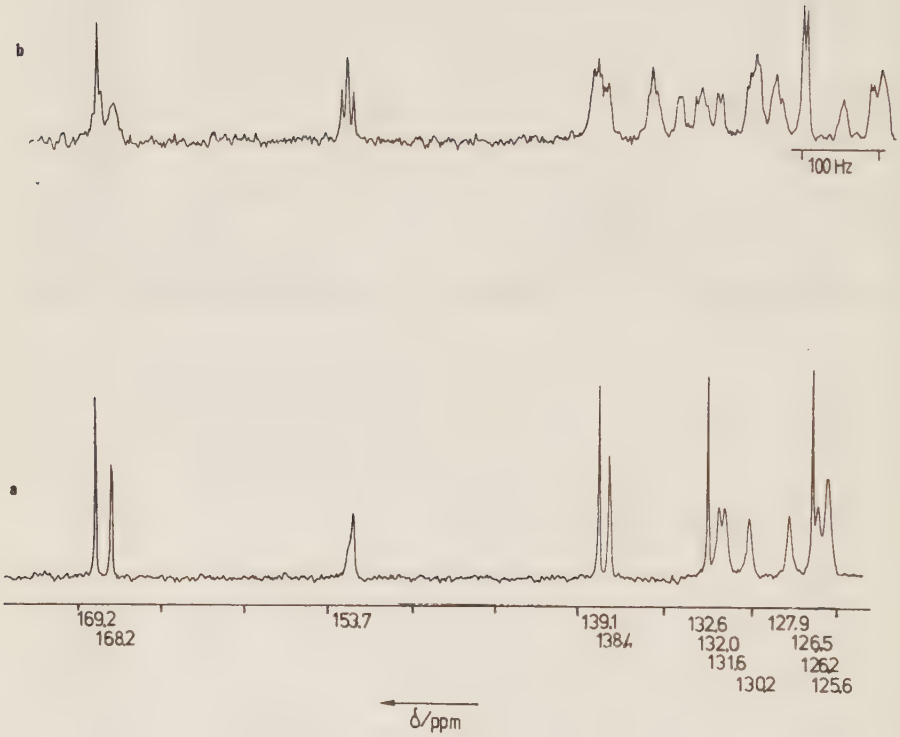


Abb. 18: Gespreizter Aromatenbereich der Abbildung 17
a) breitbandentkoppelt
b) gekoppelt

Tab. 11: Vergleich der ^{13}C-Resonanzen des Natriumsalzes von Bromazepam (6b) mit Bromazepam (6a)[26] in DMSO-d_6

zugeordnetes C-Atom	ppm (6a)	ppm (6b)	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten Hz (6b)	$\Delta\delta$
C-2	169.8	169.6	S t ca. 6 mit 3-H_2	-0.2
C-5	167.6	168.1	S m	+0.5
C-1'	155.8	157.5	S d 12 mit 3'-H d 5 mit 5'-H	+1.7
C-3'	148.3	149.2	D 163 mit 3'-H d 7 mit 5'-H	+0.9
C-9a	138.8	152.4	S t 8 mit 6,8-H_2	+13.6
C-5'	137.0	138.0	D 165 mit 5'-H d 6 mit 3'-H	+1.0
C-8	133.9	133.4	D 166 mit 8-H d 6 mit 6-H	-0.5
C-6	133.6	133.4	D 166 mit 6-H d 6 mit 8-H	-0.2
C-5a	127.4	128.1	S Aufspaltung verdeckt	+0.7
C-4'	124.9	125.3	D 160 mit 4'-H t 7,5 mit 3'6'-H_2	+0.4
C-6'	123.4	124.7	D 162 mit 6'-H d 6 mit 4'-H	+1.3
C-9	123.0	128.5	D 162 mit 9-H	+5.5
C-7	114.0	109.2	S d 10 mit 9-H t 3 mit 6,8-H_2	-4.8
C-3	57.0	59.3	T 142 mit 3-H_2	+2.3

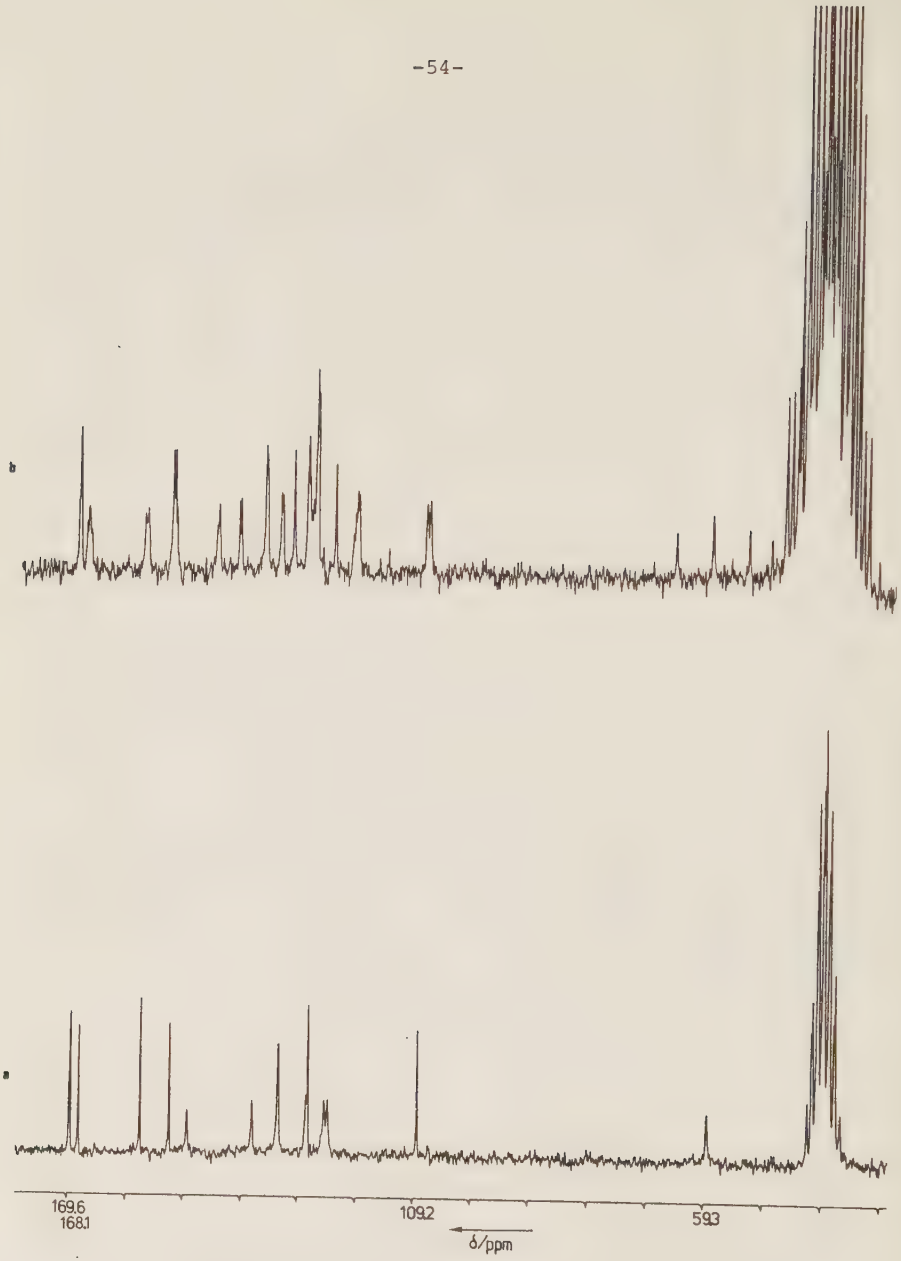


Abb. 19: ^{13}C-NMR-Spektrum des Natriumsalzes von Bromazepam (6b)
a) breitbandentkoppeltes Spektrum
b) gekoppeltes Spektrum

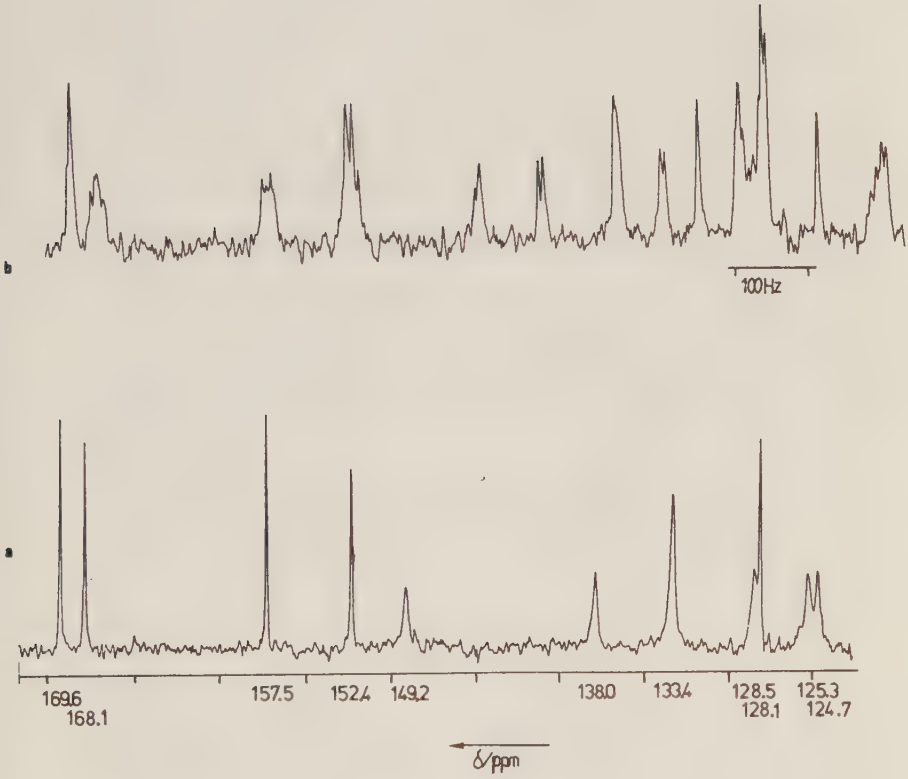


Abb. 20: Gespreizter Teilbereich von Abbildung 19
a) breitbandentkoppelt
b) gekoppelt

Im Natriumsalz von Clonazepam (5b) wird C-9a aufgrund der Möglichkeit zur Ausbildung einer Azomethin-Teilstruktur gegenüber der Ausgangsverbindung 5a um 9.5 ppm tieffeldverschoben. C-9 wird durch den Tieffeldkegel des deprotonierten Stickstoffes beeinflußt und erscheint bei 125.6 ppm im Gegensatz zu 122.1 ppm bei 5a. Im Vergleich zu Nitrazepam (4b)[3] wird C-6 um 0.7 ppm entschirmt, während C-8 einer minimalen Hochfeldverschiebung unterliegt. Dies läßt vermuten, daß die Delokalisation der negativen Ladung anders als in 4b nicht über C-6, sondern über C-8 und C-7, das um 2.5 ppm hochfeldverschoben erscheint, zur NO_2-Gruppe erfolgt. Auch im Natriumsalz von Bromazepam (6b) werden C-9 und C-9a durch den deprotonierten Stickstoff zu tieferem Feld verschoben. Die Entschirmung beträgt bei C-9 5.5, bei C-9a 13.6 ppm. Die Veränderungen der C-Atome 6 und 8 liegen in der gleichen Größenordnung: Sie erfahren eine Hochfeldverschiebung um 0.2 bzw. 0.5 ppm. Die Delokalisation der negativen Ladung ist demnach bei 6b vermutlich über den gesamten Ring A gleichmäßig verteilt.
Eine Beteiligung von C-2 an der Mesomerie des freien Elektronenpaares kann sowohl im Natriumsalz von Bromazepam wie auch von Clonazepam ausgeschlossen werden, da keine Veränderung in den chemischen Verschiebungen der Carbonyl-Kohlenstoffe zu registrieren ist.

3.1.3 ^{1}H-spektroskopische Untersuchungen

Die Protonenresonanzspektren der Natriumsalze von Bromazepam und Clonazepam sollen die durch die Kohlenstoffresonanzspektroskopie gewonnenen Erkenntnisse abrunden. Hierzu werden auch ^{1}H-NMR-Spektren des Natriumsalzes von Nitrazepam als Vergleich herangezogen (Tab. 12, Abb. 21 - 23).
Bei allen Verbindungen fällt eine diamagnetische Verschiebung der Protonen des Ringes A auf, quantitativ treten jedoch Unterschiede auf. Die 3-H_2-Protonen werden im Gegensatz zu C-3 in den Kohlenstoffresonanzspektren ebenfalls abgeschirmt. Sie stehen im positiven Anisotropiekegel von Ring A und werden durch die Delokalisierung der negativen Ladung zusätzlich hochfeldverschoben. Da sich Anisotropieeffekte in der ^{13}C-Spektroskopie nicht auswirken, bleibt C-3 unbeeinflußt.

Tab. 12: Vergleich der ^{1}H-Resonanzen der Natriumsalze von Clonazepam (5b), Bromazepam (6b) und Nitrazepam (4b) mit den entsprechenden Ausgangsverbindungen 5a, 6a und 4a

zugeordnetes Proton	ppm Clonazepam (5a)	ppm Clonazepam-Na (5b)	ppm Bromazepam (6a)	ppm Bromazepam-Na (6b)	ppm Nitrazepam (4a)	ppm Nitrazepam-Na (4b)
1-H	11.29	-	10.63	-	11.15	-
8-H	8.38	7.94	7.71	7.41	8.40	8.25
6-H	7.75	7.64	7.42	7.21	8.00	7.93
9-H	7.44	6.90	7.16	6.95	7.45	7.27
$3\text{-}H_2$	4.31	3.93	4.12	3.97	4.24	4.10
$H_{aromat.}$	7.6-7.5	7.49	8.6-7.5	8.6-7.3	7.5-7.4	7.46

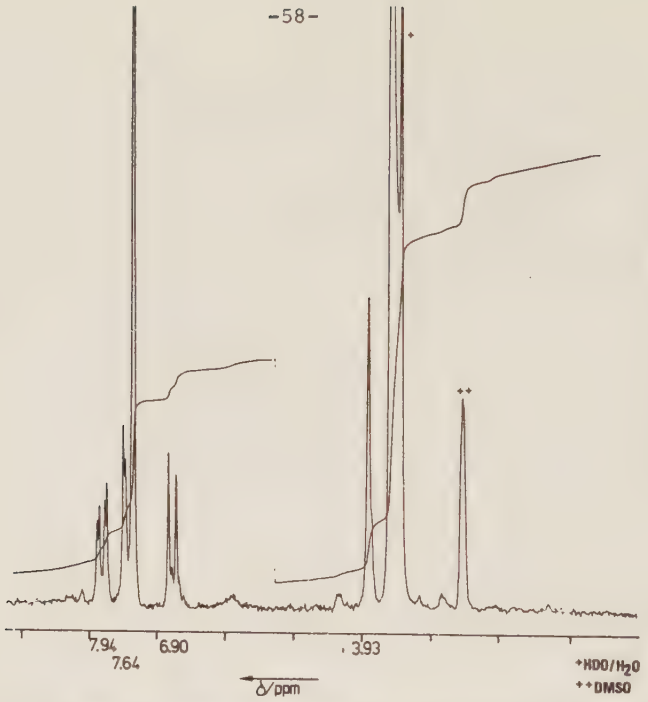


Abb. 21: 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des Natriumsalzes von Clonazepam (5b) in DMSO-d_6/NaOD

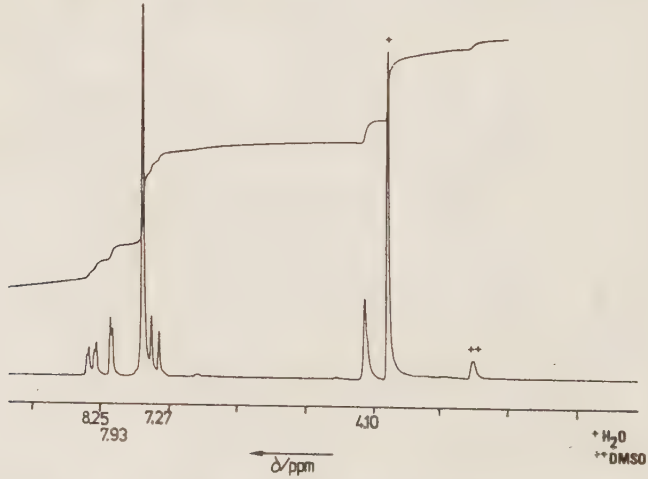


Abb. 22: 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des Natriumsalzes von Nitrazepam (4b) in DMSO-d_6/NaOD

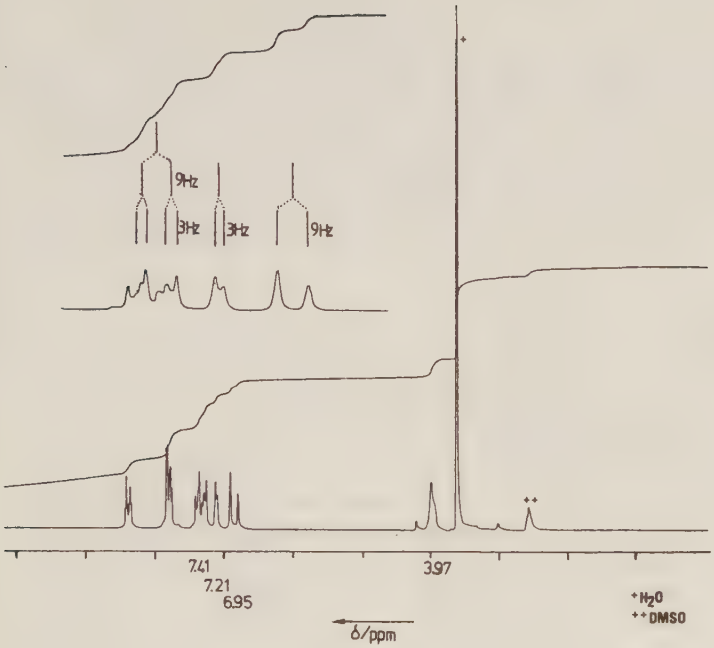
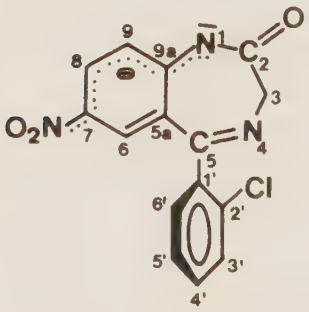
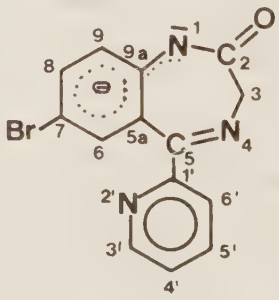


Abb. 23: 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des Natriumsalzes von Bromazepam (6b) in DMSO-d_6/NaOD

Die stärksten diamagnetischen Verschiebungen im Natriumsalz von Clonazepam (5b) betreffen 8-H und 9-H (0.44 und 0.54 ppm). Im Gegensatz dazu erscheint 6-H im Vergleich zur Ausgangsverbindung 5a nur bei 0.11 ppm höherem Feld. Im Natriumsalz von Bromazepam (6b) fallen die Hochfeldverschiebungen von 6-H, 8-H und 9-H in etwa gleich aus (0.21 - 0.30 ppm). Im Vergleich dazu sind die diamagnetischen Verschiebungen von 8-H und 9-H bei der Vergleichssubstanz 4b schwächer ausgeprägt und bei weitem nicht so stark wie im Natriumsalz von Clonazepam (5b). 6-H kann in den negativen Ringstrombereich des Aromaten C kommen. Daher fällt die diamagnetische Verschiebung mit 0.07 ppm kleiner aus als zu erwarten wäre.
Diese Ergebnisse bestätigen die der ^{13}C-Spektroskopie: Im Natriumsalz von Clonazepam erfolgt die Delokalisierung der negativen Ladung über die C-Atome 9a, 8 und 7 zur Nitrogruppe. Eine Ladungsverteilung über C-9a, C-5a, C-6 und C-7 wie beim Natriumsalz von Nitrazepam (4b) dürfte durch die Nähe des in Richtung C-5a weisenden 2'-Chlorsubstituenten[20] und die damit verbundenen elektrostatischen Abstoßungskräfte behindert sein. ^{13}C- und ^{1}H-Verschiebungen von C-6 und C-8 bzw. 6-H und 8-H im Natriumsalz von Bromazepam (6b) gegenüber der Ausgangsverbindung 6a zeigen, daß die Abschirmung dieser Atome ähnlich stark ausfällt. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die negative Ladung gleichmäßig über den Ring A delokalisiert ist.



5b

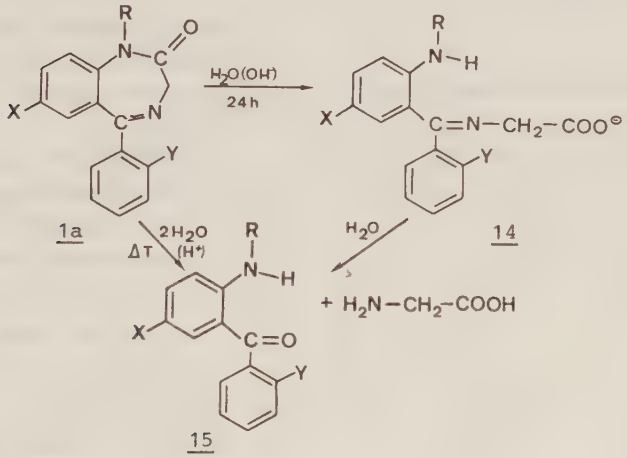


6b

3.2 Farbsalz von Flunitrazepam mit Lauge

3.2.1 Grundsätzliche Überlegungen

Die Gelbfärbung von Flunitrazepam (7a) mit Alkali[7] kann nicht auf die Bildung eines Benzodiazepin-Anions analog zu Bromazepam oder Clonazepam zurückgeführt werden, da 7a keine N-H-acide Funktion aufweist. In der Literatur[27,28] sind folgende Reaktionen von Benzo[1,4]diazepinen beschrieben (Schema 1):



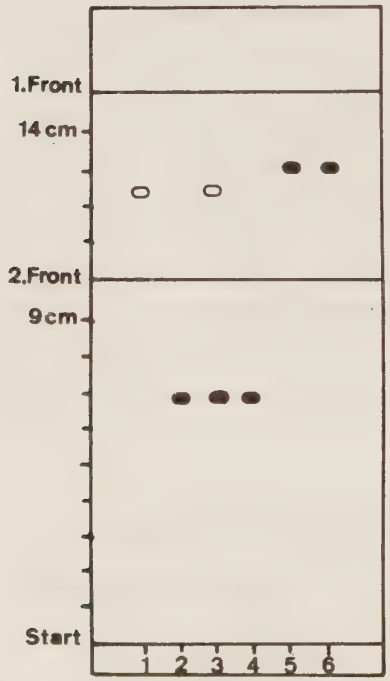
Schema 1: Saure und alkalische Hydrolyse von Benzodiazepinen

Durch Säureeinwirkung bildet sich das Benzophenonderivat (15), während nach 24-stündiger Behandlung mit Lauge die Amidbindung gespalten wird und das Glyciniminderivat (14) entsteht. Dieses kann wiederum zum Benzophenonderivat hydrolysiert werden.
Es stellte sich die Frage, ob der gelbe Farbstoff, der aus 7a beim Tüpfeln mit Lauge entsteht, mit 14 oder 15 identisch ist.

Glycinimin- und Benzophenonderivat (14 bzw. 15) sollten zu Vergleichszwecken synthetisiert werden. Zur Herstellung von 14 wird Flunitrazepam (7a) mit 3 N-NaOH versetzt und 24 Stunden gerührt. 15 kann durch saure Hydrolyse unter Hitzeeinwirkung entstehen. Die beiden Substanzen wurden durch DC, UV, IR und NMR charakterisiert und mit dem Farbstoff, der beim Tüpfeln mit Lauge entsteht, verglichen.

3.2.2 Strukturaufklärung des gelben Farbstoffes

3.2.2.1 DC-Untersuchung



Fm Zweifachentwicklung
1 Chloroform 80
Methanol 14
Ammoniak 1
Laufstrecke 15 cm
2 Wassergesättigtes Ethylacetat
Laufstrecke 10 cm

Sorbens: Kieselgel 60-F_{254}-Glasplatten Merck
Schichtdicke 0,25 cm

(1) Flunitrazepam
(2) Farbstoff nach SC-Trennung
(3) Flunitrazepam/KOH nach Tüpfeln
(4) Glycinimimderivat (14)
(5) Glyciniminderivat nach HCl-Behandlung
(6) Benzophenonderivat

Detektion: UV_{254}, Eigenfärbung

Abb. 24: Dünnschichtchromatogramm von Flunitrazepam und dessen Spaltprodukten

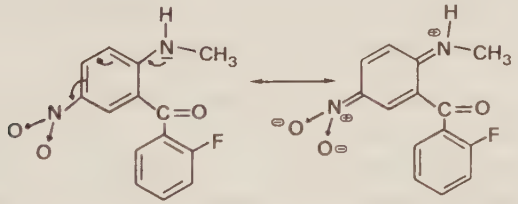
Nach dem DC entsteht aus Flunitrazepam beim Tüpfeln mit Lauge das gleiche Produkt wie nach 24-stündiger basischer Hydrolyse.

Zusätzlich ist bei (3) in Abbildung 24 nicht umgesetztes Flunitrazepam vorhanden. Aus dem basischen Hydrolysat bildet sich unter HCl-Einwirkung das gleiche Produkt wie bei der sauren Hydrolyse, nämlich das Benzophenonderivat (15).

3.2.2.2 Elektronenspektroskopische Untersuchungen

Die Elektronenspektren des basischen Hydrolyseproduktes und des Tüpfelproduktes nach Säulentrennung sind nahezu identisch (Abb. 25). Das Vorliegen eines Benzophenonderivates kann auch deshalb ausgeschlossen werden, da letzteres Maxima bei 230 (ε = 16 700) und 363 nm (ε = 18 300) aufweist (vgl. S. 128)

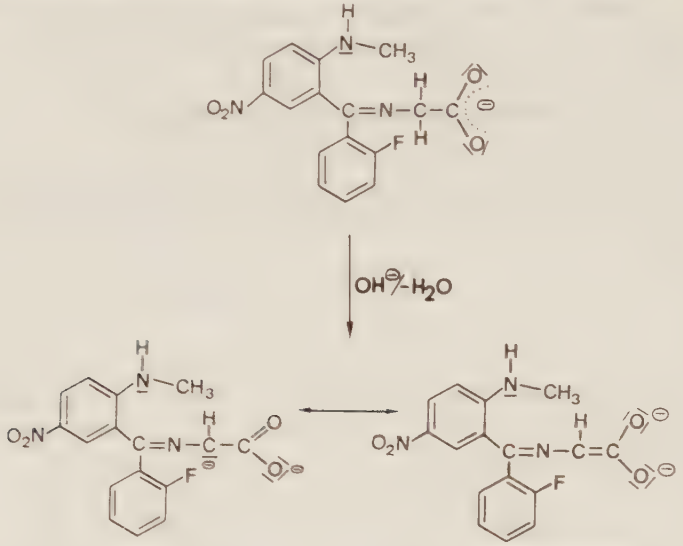
Beim Benzophenonderivat[15] stellt man gegenüber dem Maximum bei 305 nm des Flunitrazepams (7a) eine bathochrome Verschiebung um 58 nm fest: Durch die Spaltung der Amidbindung zum Amin wird der +M-Effekt des N-1-Atoms verstärkt und der Gegensatz zum -M- und -I-Effekt der p-ständigen Nitrogruppe weiter ausgeprägt. Die Vergrößerung des Chromophors ist mit der möglichen Ausbildung einer Betain-Teilstruktur verbunden.



Schema 2: Mesomere Grenzstrukturen des Benzophenonderivates (15)

Das im Flunitrazepam bei 305 nm auftretende Maximum wird im basischen Hydrolysat um 63 nm in den längerwelligen Bereich verschoben. Der Grund dafür ist in Analogie zum Benzophenonderivat ebenfalls vor allem im zunehmenden +M-Effekt von N-1 zu suchen.
Es fällt auf, daß das Maximum des Glyciniminderivates (14) in ethanol. NaOH im Vergleich zu dem in abs. Ethanol um 20 nm zu höheren Wellenlängen verschoben ist. Dieser Effekt wird möglicherweise durch die basenkatalysierte Abspaltung eines

Protons der Methylengruppe hervorgerufen, durch die das gesamte Chromophor erweitert wird.



Schema 3: Erweiterung des Chromophors im Glyciniminderivat (14) durch Protonenabspaltung im alkalischen Milieu

Weiterhin ist in Abbildung 25 zu erkennen, daß Maxima bei 205 nm nur in Ethanol, nicht aber in ethanol. NaOH auftreten. Wie die Prüfung auf Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes ergab, sind die Extinktionen nicht proportional zur Konzentration. Es handelt sich hier um "künstliche Maxima", die oft im Bereich zwischen 200 und 215 nm auftreten[29]. Sie kommen u.a. durch einen hohen Streulichtanteil im Spektrometer oder beginnende Sauerstoffabsorption zustande und sind dadurch charakterisiert, daß ihre Extinktion dem Lambert-Beerschen Gesetz nicht gehorcht. Außerdem hängt die Lage und Intensität künstlicher Maxima auch vom verwendeten Lösungsmittel ab. Die Ergebnisse der Elektronenspektroskopie bestätigen das der DC-Untersuchung, wonach es sich bei dem gelben Farbprodukt aus Flunitrazepam und Lauge um das Glyciniminderivat (14) handelt.

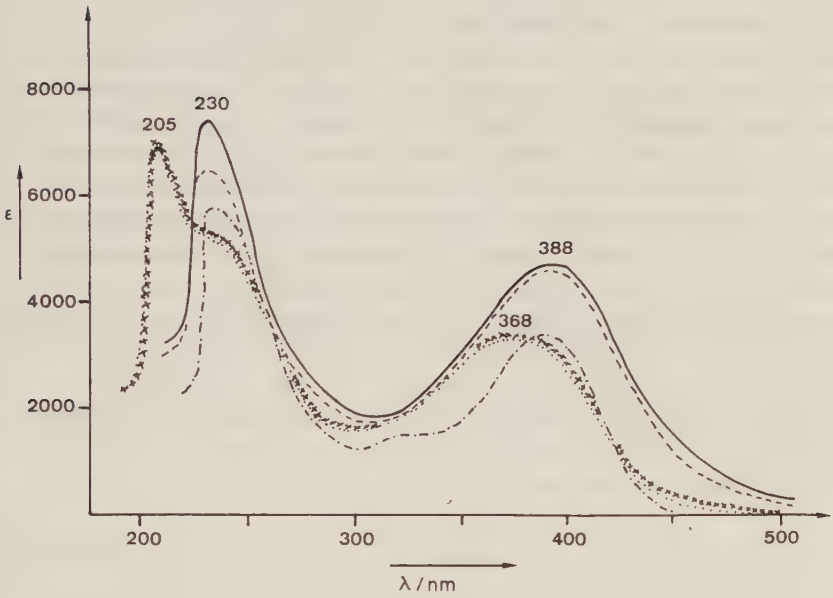


Abb. 25: Elektronenspektren des Glyciniminderivates von Flunitrazepam (14)

—— Glyciniminderivat in 0,1 N-ethanol. NaOH ($c=10^{-4}$mol/l)

--- Gelber Farbstoff nach SC in 0,1 n-ethanol. NaOH ($c=10^{-4}$mol/l)

-·-·Flunitrazepam in 0,1 N-ethanol. NaOH ($c=10^{-4}$mol/l)

····Glyciniminderivat in abs. Ethanol ($c=10^{-4}$mol/l)

xxx Gelber Farbstoff nach SC in abs. Ethanol ($c=10^{-4}$mol/l)

3.2.2.3 Infrarotspektroskopische Untersuchung

Von Flunitrazepam (7a), saurem (15) und basischem Hydrolyseprodukt (14) wurden IR-Spektren aufgenommen. Dabei zeigte sich, daß die von Glycinimin derivat (14) und gelbem Farbstoff identisch sind (Abb. 26).
Im IR-Spektrum von 14 erscheint bei 3400 cm^{-1} die Bande der N-H-Valenzschwingung, die durch die Wechselwirkung mit der Carboxylatgruppe, ähnlich wie bei Aminosäuren, verbreitert ist. Bei 3100 cm^{-1} sind Aryl-H-Valenzschwingungen zu erkennen. Zwischen 3000 und 2800 cm^{-1} schließen sich die Banden der CH_2- und $N-CH_3$-Gruppe an. Die Carboxylat-Carbonyl-Bande wird bei 1600 cm^{-1} sichtbar. Sie ist teilweise durch die Aromatenschwingung überlagert, die bei Wellenzahlen von 1660, 1575 und 1495 cm^{-1} auftreten. Für die Azomethingruppe sind die spezifischen Banden kaum auszumachen, da ihr Absorptionsbereich mit dem der C=C-Valenzschwingungen praktisch identisch ist.
Die C-N-Valenzen des sekundären aromatischen Amins liegen bei 1295 und 1265 cm^{-1}. Bei 1100 cm^{-1} ist die Bande der Aryl-F-Schwingung zu beobachten.

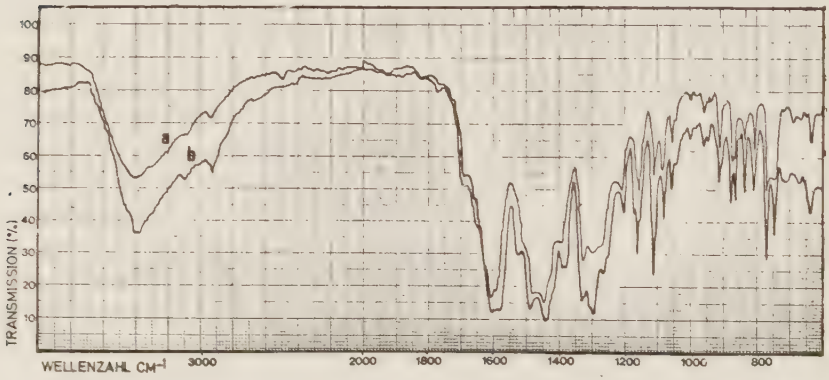


Abb. 26: IR-Spektrum von 14 (a) sowie des gelben Farbstoffes nach SC-Trennung (b) (KBr-Preßling)

3.2.2.4 Protonenresonanzspektren

Der abschließende Beweis, daß es sich bei dem gelben Farbstoff aus Flunitrazepam und Lauge um das Glycyniminderivat (14) handelt, wird durch die ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektroskopie erbracht: Die Protonen- und Kohlenstoffresonanzspektren sind mit denen von 14 identisch.
Besonders deutlich kommen die Auswirkungen der basenkatalysierten Ringspaltung auf die chemischen Verschiebungen beim Vergleich mit Flunitrazepam (7a) zum Ausdruck. Da das basische Hydrolysat schlecht löslich ist, wurde ein 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum aufgenommen. Damit können alle Protonenresonanzen eindeutig zugeordnet werden (Tab. 13, Abb. 27 - 29).

Tab. 13: Vergleich der ^{1}H-Resonanzen von basischem Hydrolysat (14) (400 MHz in D_2O) und Flunitrazepam (7a) (80 MHz in Aceton)

zugeordnetes Proton	ppm (14)	Kopplungskonstanten (Hz) mit Aufspaltungsmuster (14)	ppm (7a)	Kopplungskonstanten (Hz) mit Aufspaltungsmuster (7a)
1-H (H-Brücke)	8.47	-	-	
8-H	8.22	d ^{o}J = 9,0 d ^{m}J = 3,0	8.44	d ^{o}J = 9,0 d ^{m}J = 3,0
6-H	7.87	d ^{m}J = 3,0	8.03	d ^{m}J = 3,0
9-H	6.82	d ^{o}J = 9,0	7.82	d ^{o}J = 9,0
6'-H	7.67	d $^{m}J_{HF}$ = 7,5 d ^{o}J = 7,5 d ^{m}J = 1,5		
4'-H	7.54	t ^{o}J = 7,5 d $^{m}J_{HF}$ = 7,0 d ^{m}J = 1,5	7.8-7.3	$H_{aromat.}$
5'-H	7.30	t ^{o}J = 7,5 d ^{m}J = 1,0		
3'-H	7.17	d $^{o}J_{HF}$ = 10,5 d ^{o}J = 7,5 d ^{m}J ca. 1,0		
3b-H	4.17	d ^{2}J = 16,0	4.67	d ^{2}J = 9,0
3a-H	4.09	d ^{2}J = 16,0	3.97	d ^{2}J = 9,0
10-H_3	2.91	-	3.48	-

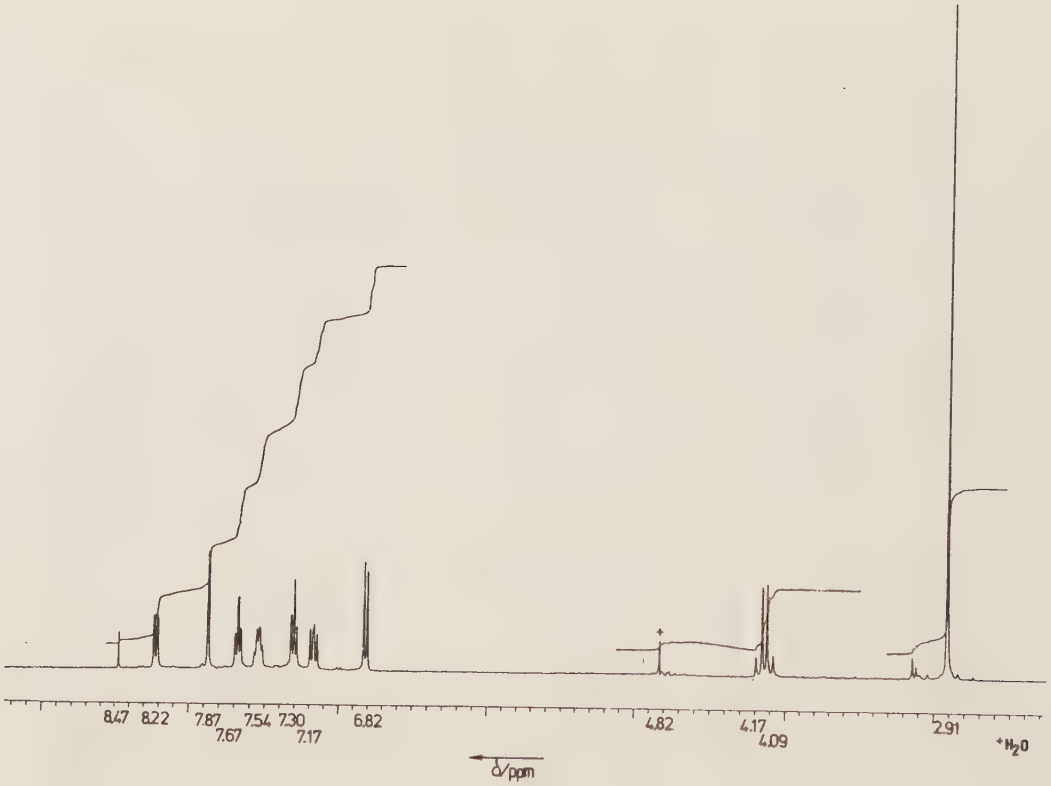


Abb. 27: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des basischen Hydrolysats (14) in D_2O

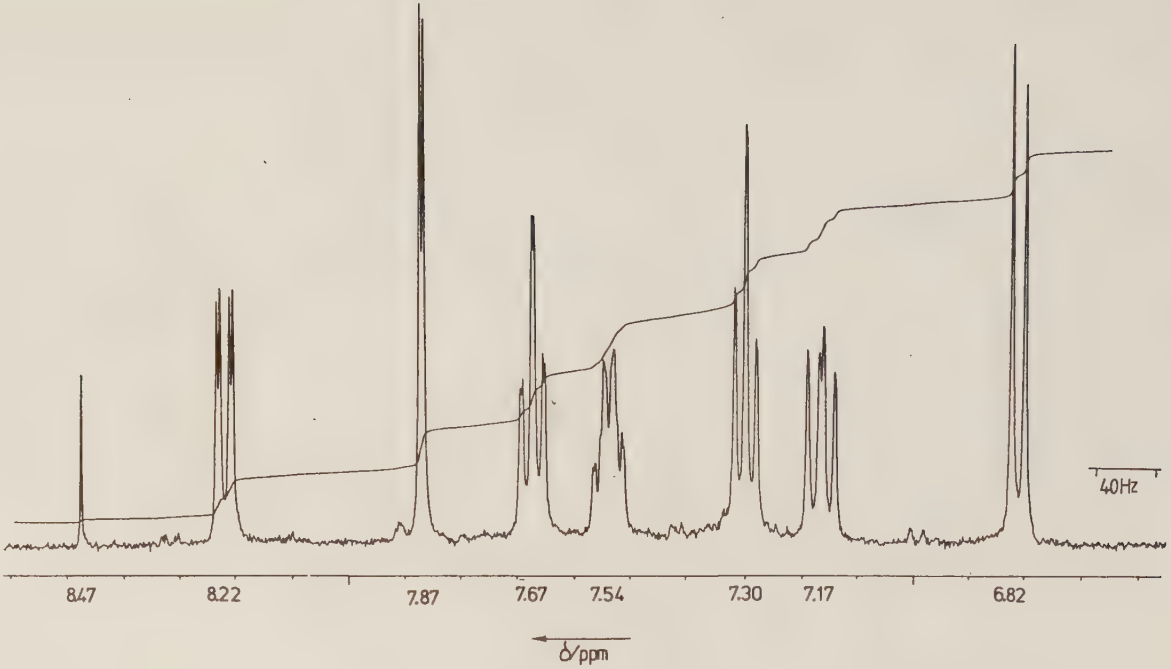


Abb. 28: Gespreizter Aromatenbereich von Abbildung 27

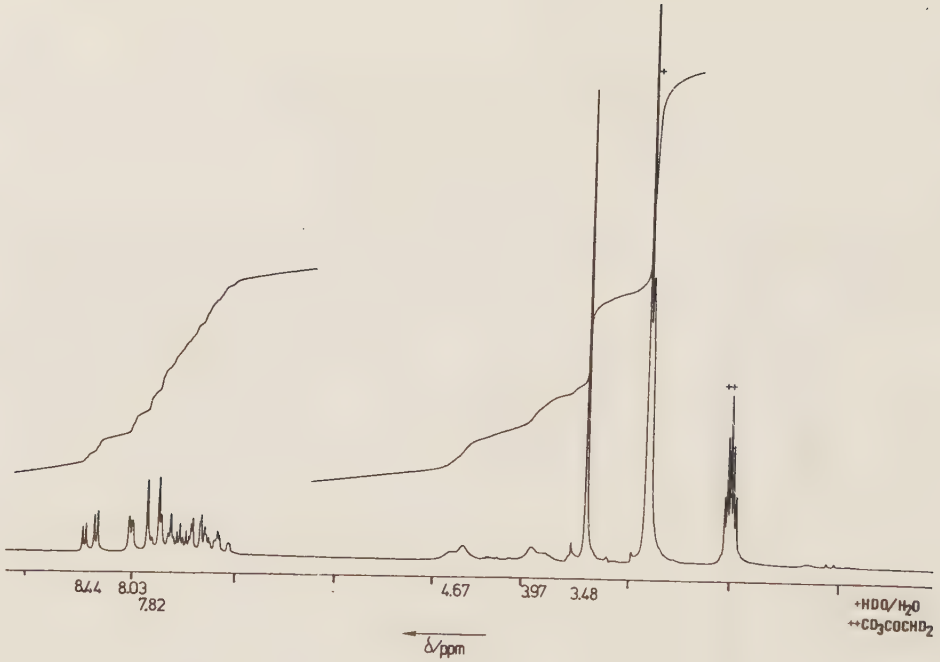
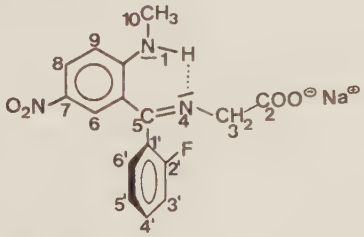


Abb. 29: 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum von Flunitrazepam (7a) in Aceton-d_6

Bei Flunitrazepam (7a) (Abb. 29) erscheinen 6-H, 8-H und 9-H durch den Einfluß der elektronenziehenden Nitrogruppe gegenüber den anderen aromatischen Protonen tieffeldverschoben. Die Signale können aufgrund der Aufspaltungsmuster zugeordnet werden. Die C-3-Methylenprotonen erscheinen als Folge ihrer Nichtäquivalenz, ähnlich wie bei anderen N-1-substituierten Benzodiazepinen[30-35] als AB-System bei 4.67 und 3.97 ppm. Im Unterschied zu den von LINDEN[36] untersuchten N-1-substituierten Benzodiazepinen bildet die 3-H_2-Gruppe kein scharfes AB-System. Die Signale ähneln vielmehr denen des Diazepam (2a) bei erhöhter Temperatur. Daraus läßt sich schließen, daß die Koaleszenztemperatur von Flunitrazepam nur wenig über Raumtemperatur liegt und das Durchschwingen des Diazepinringes in die andere Wannenform weniger behindert ist. Im basischen Hydrolyseprodukt (14) (Abb. 27 und 28) erscheint das Signal für 9-H gegenüber Flunitrazepam um 1.00 ppm hochfeldverschoben bei 6.82 ppm. Die verstärkte Abschirmung ist dadurch zu erklären, daß das freie Elektronenpaar an N-1 im Amin dem Aromat stärker zur Verfügung steht als im Lactam (Flunitrazepam), da die elektronenziehenden Eigenschaften der Carbonylfunktion nicht zum tragen kommen. Besonders deutlich wird dieser Effekt in o- und p-Stellung zum Substituenten, im vorliegenden Fall jedoch nur an 9-H, da in den anderen o- und p-Positionen keine H-Atome vorhanden sind. Aus dem Auftreten eines Signals bei 8.47 ppm kann geschlossen werden, daß 1-H eine Wasserstoffbrückenbindung zu dem Stickstoffatom in Position 4 ausbildet (14).



14

Dadurch wird das Aminproton nicht ausgetauscht und kann auch in D_2O sichtbar werden. Eine Kopplung mit 10-H_3 ist nicht zu beobachten. Durch die Wasserstoffbrücke ist 1-H gegenüber anderen p-Nitroanilinderivaten tieffeldverschoben. So taucht die NH_2-Resonanz in p-Nitroanilin bei 5.7 ppm auf[37]. Zusätzlich kann sich der entschirmende Einfluß der Azomethinfunktion in o-Stellung bemerkbar machen. Die 3-H_2-Protonen sind nicht äquivalent, sie treten bei 4.17 und 4.09 ppm mit einer geminalen Kopplungskonstante von 16 Hz in Resonanz.

3.2.2.5 Kohlenstoffresonanzspektren

Die Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von Flunitrazepam (7a) erfolgte anhand der chemischen Verschiebungen und er Aufspaltungsmuster der einzelnen Signale im gekoppelten Spektrum sowie durch Vergleich mit den Daten bereits untersuchter Benzodiazepine[25]. Quartäre C-Atome wurden zusätzlich mit Hilfe der Low-Power-Noise-Entkopplung identifiziert. Die Ergebnisse decken sich mit denen von FINNER, ZEUGNER und MILKOWSKI[21]. Aus den Raumkopplungen von 2'-F mit C-5a und C-6 schlossen die genannten Autoren auf eine senkrechte Anordnung der Ebene des Fluorphenylringes zur C=N-Bindungsachse. Sie gingen jedoch nicht auf das Signal von C-3 ein, das bei 56.8 ppm mit Kopplungskonstanten von 145,5 bzw. 150,0 Hz erscheint. Dieses Signal ähnelt der C-3-Resonanz N-1-substituierter Benzodiazepine bei erhöhter Temperatur, d.h. wenig unterhalb des Koaleszenzpunktes. Die Direktkopplungen von 145,5 und 150,0 Hz entsprechen eher denen N-1-unsubstituierter Benzodiazepine (ca. 143 Hz mit 3-H_2).
Wie bereits nach den ^{1}H-Untersuchungen vermutet wurde, scheint das Durchschwingen des Diazepinringes weniger behindert zu sein, als in anderen N-1-substituierten Benzodiazepinen. Daraus läßt sich folgern, daß nicht nur der N-1-Substituent den Umklappvorgang behindert, sondern auch der Phenylring C daran beteiligt ist. Da er in Flunitrazepam senkrecht zur

Ebene der C=N-Bindungsachse und des anellierten Aromaten steht, sind die sterischen Hinderungen der Ringprotonen des Aromaten C, besonders von 6'-H mit 6-H geringer, so daß die Energiebarriere zwischen den beiden Wannenformen gesenkt wird. Die Behinderung durch die N-CH_3-Gruppe ist allerdings nach wie vor vorhanden und die 3-H_2-Protonen werden nicht völlig äquivalent.
Aufgrund der schlechten Löslichkeit des basischen Hydrolysats (14) konnte nur ein breitbandentkoppeltes Spektrum aufgenommen werden. Die Zuordnung der Signale gelang jedoch durch Vergleich mit Flunitrazepam unter Zuhilfenahme von Inkrementberechnungen (Abb. 30 und 31, Tab. 14).
Während im Spin-Echo-Spektrum (Abb. 30b) nur einfache Signale zu erkennen sind, fällt im breitbandentkoppelten Spektrum (Abb. 30a), das nach längerer Meßzeit aufgenommen wurde, Verdopplung aller Signale auf.

Tab. 14: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen des basischen Hydrolysats von Flunitrazepam (14) (100,57 MHz) in D_2O im Vergleich zu Flunitrazepam (7a) in DMSO-d_6

zugeordnetes C-Atom	ppm Flunitrazepam in DMSO-d_6	ppm basisches Hydrolysat in D_2O	
		Hauptprodukt (14a)	Nebenprodukt (14b)
C-2	168.8	180.8	179.9
C-5	165.1	168.8	167.6
C-2'	160.0	160.9 ($^1J_{CF}$= 250 Hz)	162.9 ($^1J_{CF}$= 250)
C-9a	147.6	157.9	154.0
C-7	142.6	136.4	138.4
C-4'	133.0	134.4 ($^3J_{CF}$= 7,5 Hz)	135.3 ($^3J_{CF}$= 7,5)
C-6'	131.6	132.0 angespalten	133.2 angespalten
C-5a	129.6	120.1	123.4
C-8	126.3	132.1	130.2
C-1'	126.2	124.4 ($^2J_{CF}$= 20 Hz)	129.5 ($^2J_{CF}$= 12)
C-6	124.8	130.2	127.7
C-5'	124.1	127.5 ($^3J_{CF}$= 3 Hz)	127.1 ($^3J_{CF}$= 3)
C-9	122.7	112.9	111.7
C-3'	116.2	118.6 ($^2J_{CF}$= 20 Hz)	118.9 ($^2J_{CF}$= 20)
C-3	56.8	60.0	59.9
C-10	34.9	31.6	32.0

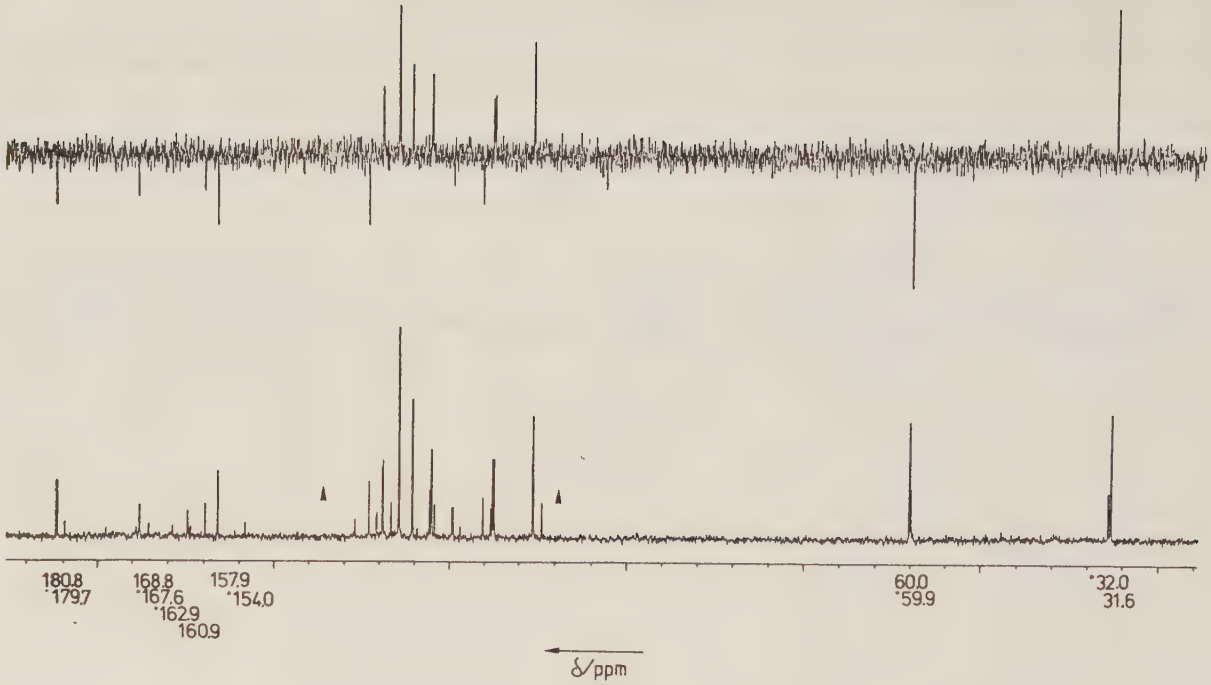


Abb. 30: 400 MHz-^{13}C-NMR-Spektrum des basischen Hydrolysats von Flunitrazepam (14) in D_2O
a) breitbandentkoppelt
b) Spin-Echo-Spektrum

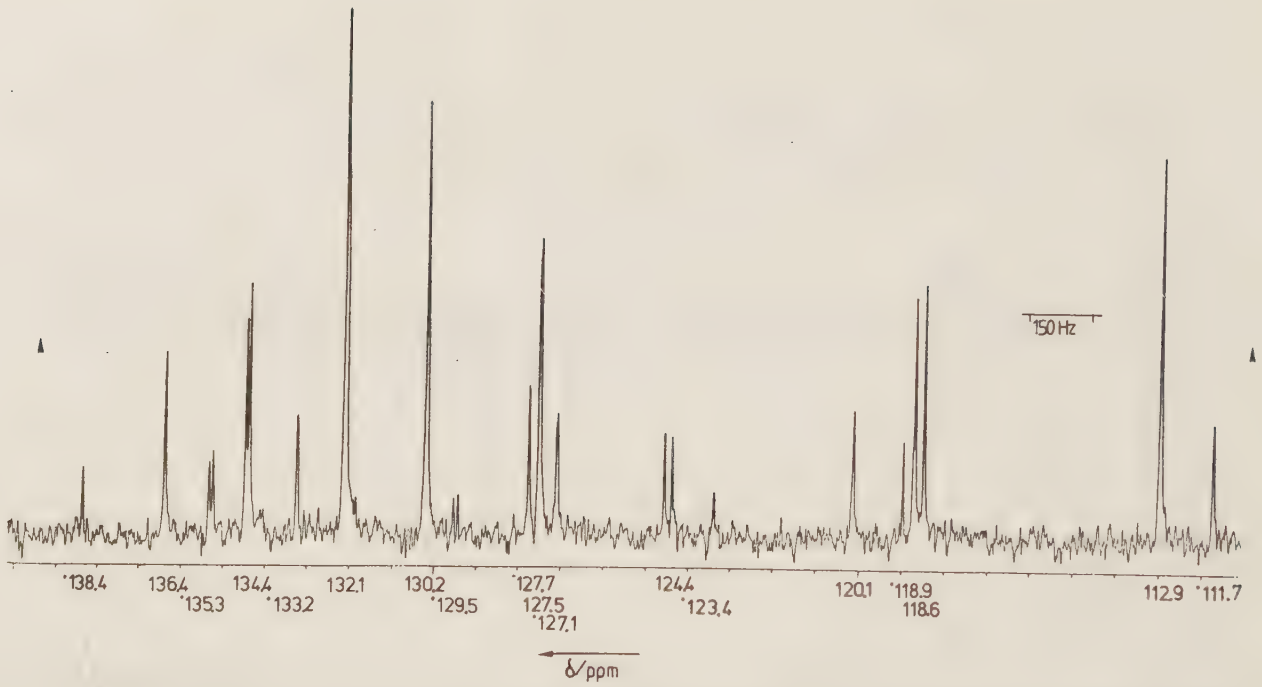
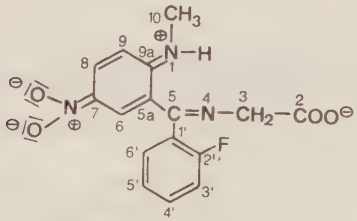


Abb. 31: Gespreizter Aromatenbereich der Abbildung 30a

Der Beweis, daß ein Carboxylat-Ion vorliegt, wird durch die Signale bei 180.8 und 179.7 ppm (Verdopplung) erbracht. Gegenüber dem C-2-Carbonyl-Kohlenstoff in Flunitrazepam bedeutet dies eine Tieffeldverschiebung von 12.0 bzw. 10.9 ppm. Durch die Umwandlung der Lactamstruktur von Flunitrazepam in eine Anilinstruktur wird der +M-Effekt von N-1 verstärkt. Daraus resultieren Hochfeldverschiebungen für die o- und p-ständigen C-Atome 5a, 7 und 9 in Haupt- und Nebenprodukt. C-9a tritt im Vergleich zu Flunitrazepam um 10.3 bzw. 6.4 ppm tieffeldverschoben in Resonanz. Bedingt durch den verstärkten +M-Effekt der Methylaminogruppe und den -M- und -I-Effekt der Nitrogruppe in p-Stellung, kann es zur Ausbildung einer Betainform kommen. Aufgrund der Immonium-Teilstruktur wird C-9a deutlich tieffeldverschoben (14c).



14c

C-10 erscheint durch den fehlenden elektronenziehenden Effekt der Carbonylgruppe leicht hochfeldverschoben bei 31.6 bzw. 32.0 ppm.
Im Gegensatz dazu wird C-3 um 3.2 bzw. 3.1 ppm tieffeldverschoben, da die Carboxylatgruppe auf benachbarte C-Atome einen stärkeren entschirmenden Einfluß ausübt als die Amidfunktion[38].
Die Struktur des gelben Farbstoffes aus Flunitrazepam und Lauge ist damit geklärt.
Weiterhin interessierten jedoch die stereochemischen Verhältnisse im Glycinimiderivat. Insbesondere sollten die Inäquivalenz der Methylenprotonen an C-3 und die Ursache der Signalverdopplungen im ^{13}C-Experiment untersucht werden.

3.2.3 Zur Konformation des Glycyniminderivates

3.2.3.1 Vergleich der Protonenspektren des Glycinimin-Natriumsalzes (14) mit seiner freien Säure (16)

Bereits in den ^{13}C-Spektren von 14 wurde deutlich, daß sich in Lösung mit der Zeit Signalverdopplungen einstellen. Diese können einerseits durch eine E-Z-Isomerie an der Azomethingruppe hervorgerufen werden, andererseits besteht die Möglichkeit, daß die Carboxylatgruppe durch das Lösungsmittel D_2O protoniert (bzw. deuteriert) wird. Aufgrund dieser Überlegungen wurde die freie Säure des Glycyniminderivates als Vergleichssubstanz hergestellt. Da 14 beim Ansäuern teilweise zum Benzophenonderivat (15) hydrolysiert wird und dieses von der freien Säure durch Umkristallisieren nicht abgetrennt werden konnte, wurde 16 mit Hilfe der präparativen DC isoliert (Tab. 15, Abb. 32 und 33).

Tab. 15: Zuordnung der ^1H-Resonanzen der freien Säure des Glycyniminderivates von Flunitrazepam (16) in D_2O/Aceton-d_6 (400 MHz)

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
8.07	8-H	d $^oJ = 9$ d $^mJ = 3$
7.68	6-H	d $^oJ = 3$
7.62	4'-H	q ^oJ, $^mJ_{HF} = 7,5$ d $^mJ = 1,5$
7.39	5'-H	t $^oJ = 7,5$
7.34	3'-H	t ^oJ, $^oJ_{HF} = 7,5 - 8$
7.23	6'-H	t $^oJ = 7,5$ d $^mJ = 1,5$
6.83	9-H	d $^oJ = 9$
4.01	3-H_2	-
3.10	10-H_3	-

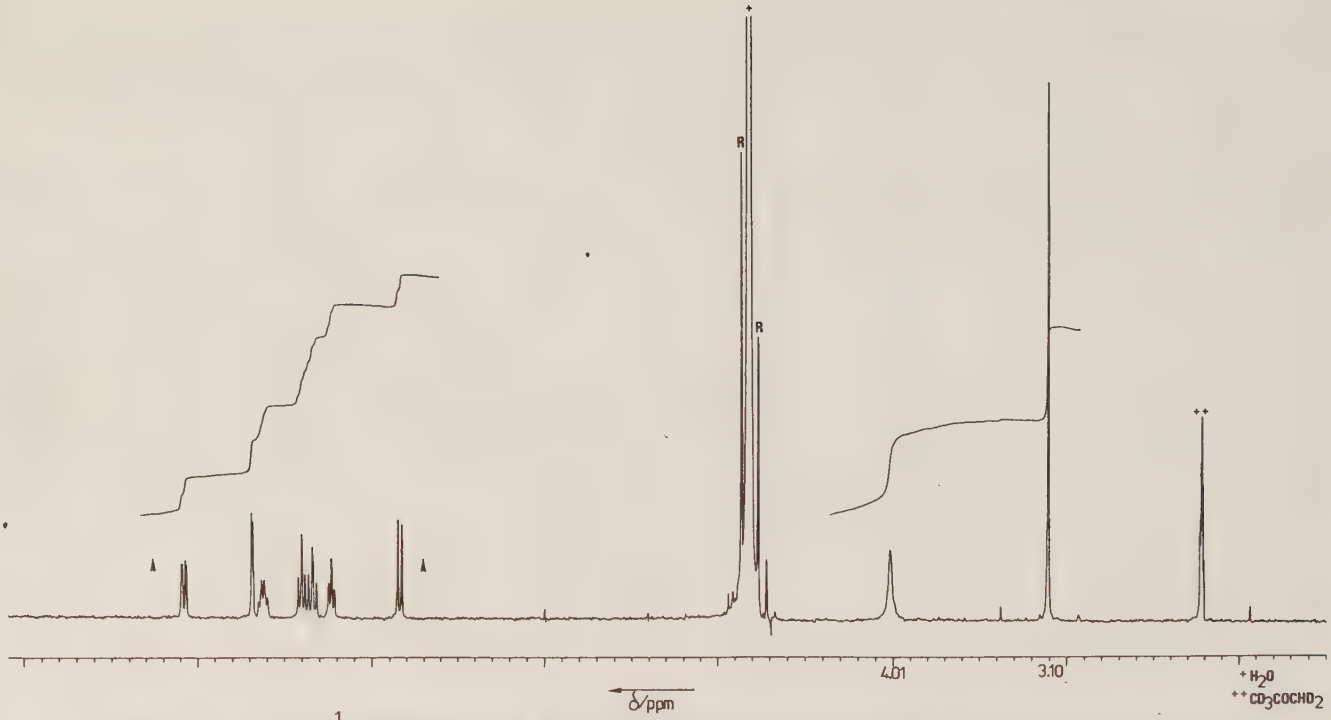


Abb. 32: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum der freien Säure des Glyciniminderivates (16) in D_2O unter Zusatz von 10 Tr. Aceton-d_6

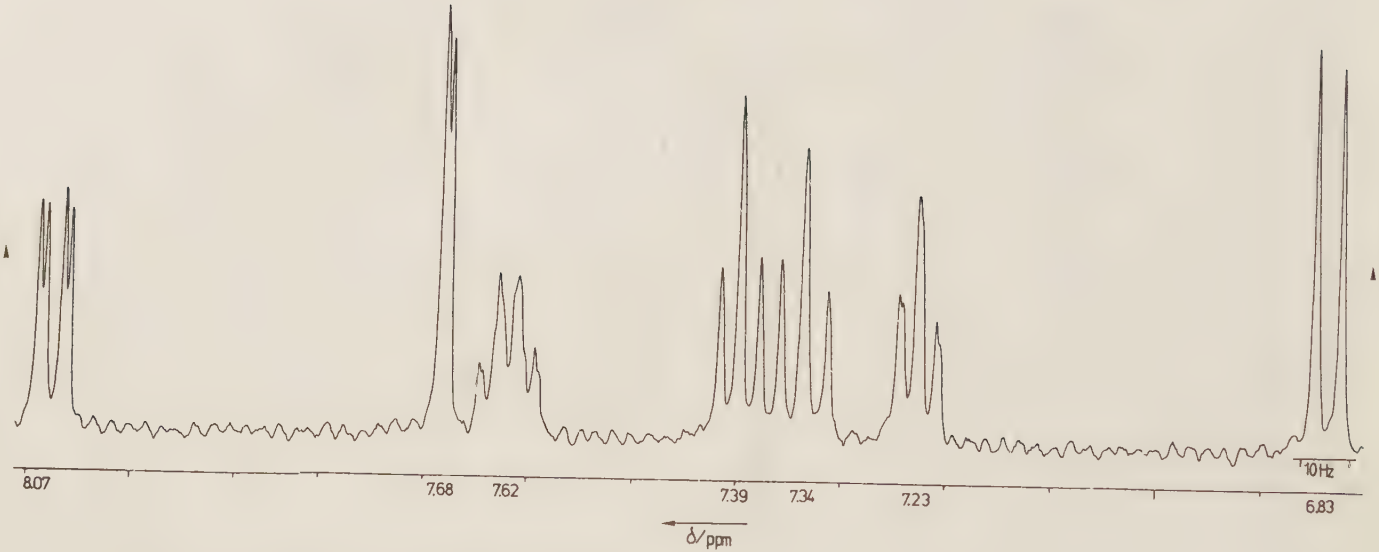


Abb. 33: Gespreizter Aromatenbereich der Abbildung 32

Folgende Unterschiede sind gegenüber den ^{1}H-Resonanzen von 14 (Tab. 13, Abb. 27 und 28) zu verzeichnen: Ein Signal für 1-H (Wasserstoffbrücke) ist nicht zu erkennen. 6-H, 8-H und 6'-H erscheinen bei 16 deutlich hochfeldverschoben. Auffällig ist weiterhin, daß die 3-H_2-Gruppe als Singulett bei 4.01 ppm in Resonanz tritt. Kernresonanzspektroskopische Beobachtung über einen längeren Zeitraum (24 Std.) hinweg ergaben, daß sich keine Signalverdopplungen einstellen und 16 in Lösung unverändert bleibt.

Tabelle 16 und Abbildung 34 und 35 geben das Protonenspektrum des Natriumsalzes 14 in D_2O/Aceton-d_6 wieder, das nach einer Zeit von 3-4 Stunden in Lösung aufgenommen wurde. Wie in den ^{13}C-Spektren sind Signalverdopplungen zu erkennen. Die chemischen Verschiebungen der neu auftretenden Signale decken sich weitgehend mit denen von 16.

Auffälligstes Merkmal der ursprünglichen Signale (Verbindung 14a) ist die Aufspaltung der 3-H_2-Protonen zu einem AB-System. Das Signal bei 8.46 ppm deutet, wie schon erwähnt, auf eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen 1-H und N-4 hin. Dadurch wird die Molekülbeweglichkeit eingeschränkt und die 3-H_2-Protonen erscheinen inäquivalent mit einer geminalen Kopplungskonstante von 16 Hz. Nach STERNHELL[39] deutet dies auf einen Winkel von 50-80° zwischen den benachbarten π-Orbitalen einer Doppelbindung und der C-H-Bindung hin. Absolute Aussagen lassen sich hier jedoch nicht machen, da die Kopplungskonstante sowohl von den π-Orbitalen der C=N-, wie auch von denen der Carboxylatgruppe beeinflußt wird. Das bei höherem Feld in Resonanz tretende Proton fällt in den positiven Ringstrombereich des Aromaten C und unterliegt dadurch einer Abschirmung. Durch die Wasserstoffbrücke liegen Ring A und Azomethinfunktion in einer Ebene. Die 3-Methylengruppe ist vermutlich in Z-Stellung (zum Fluorphenylring) angeordnet, da die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke im E-Isomer erschwert wäre.

Tab. 16: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des Glyciniminderivates von Flunitrazepam (14a/b) nach 3-4 Stunden in Lösung in D_2O/Aceton (400 MHz)

ppm von 14a (Anfangsprodukt)	ppm 14b (verdoppelte Signale)	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz) von 14a und 14b
8.46	-	1-H (H-Brücke)	-
8.16	8.05	8-H	d ^oJ = 9 d ^mJ = 3
7.81	7.67	6-H	d ^mJ = 3
7.52	7.57	4'-H	q ^oJ, $^mJ_{HF}$ = 7,5 m
7.29	7.36	5'-H	t ^oJ = 7,5
7.12	7.31	3'-H	t ^oJ, $^oJ_{HF}$ = 7,5 - 9
7.70	7.18	6'-H	t ^oJ = 7,5 d ^mJ ca. 1,5
6.78	6.81	9-H	d ^oJ = 9
4.13/4.07	4.00	3-H_2	d ^2J = 16 (nur 14a)
2.90	3.10	10-H_3	

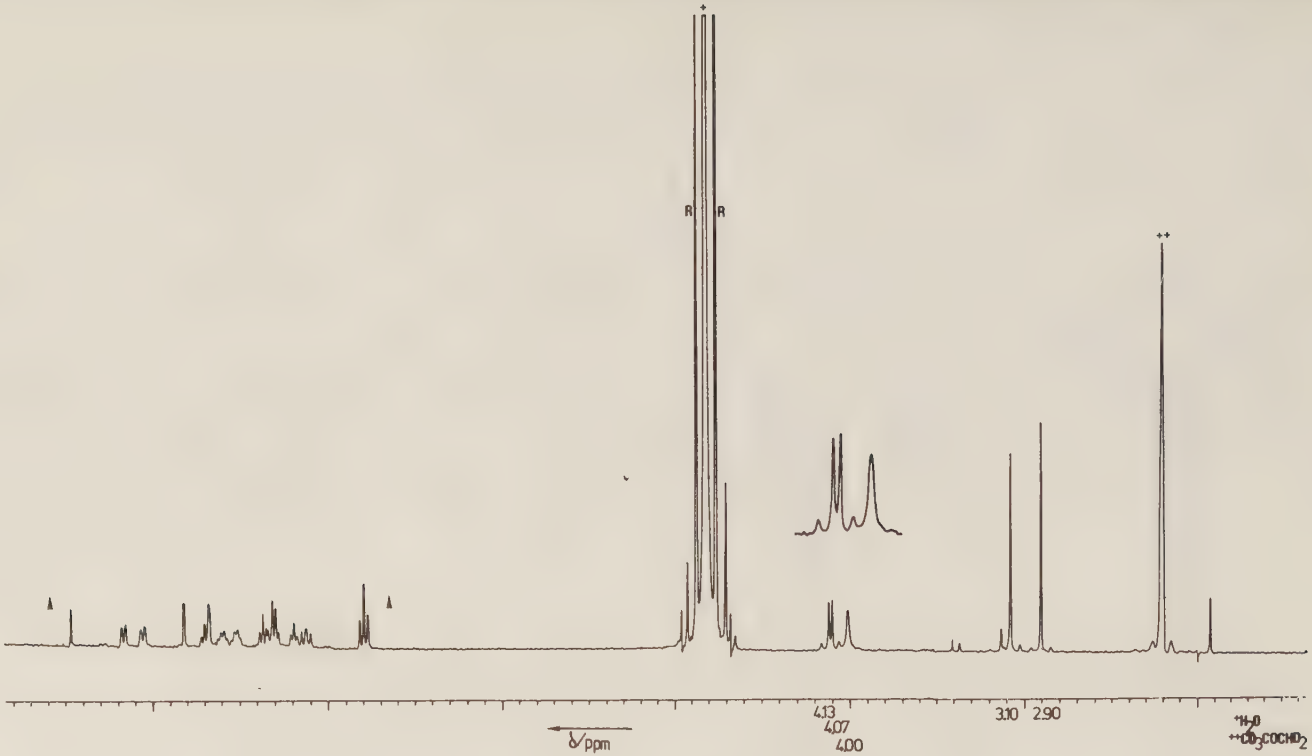


Abb. 34: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des Glyciniminderivates von Flunitrazepam (14a/b) nach 3-4 Stunden in Lösung in D_2O unter Zusatz von 10 Tr. Aceton

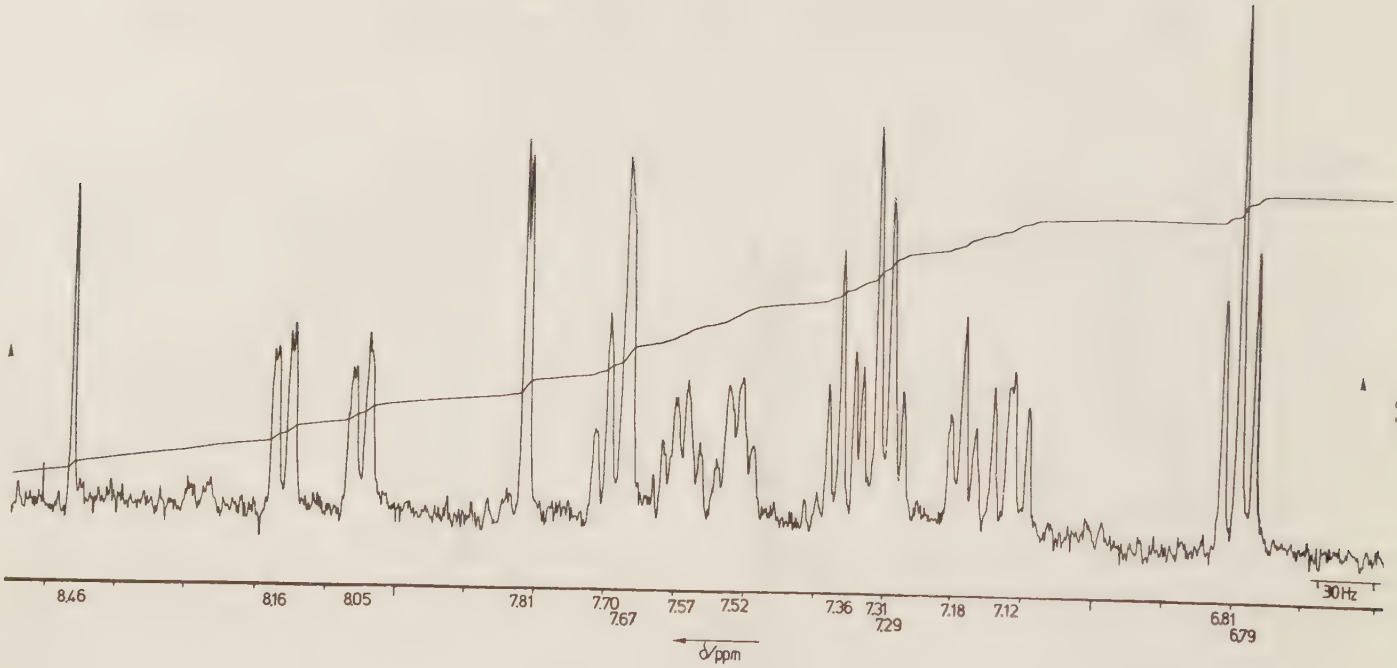
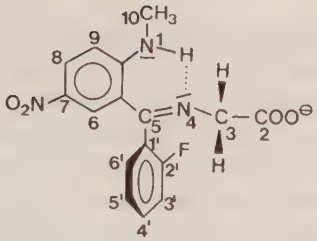


Abb. 35: Gespreizter Aromatenbereich der Abbildung 34



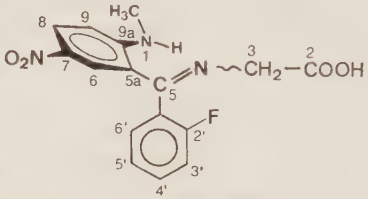
14a

Ein Einfluß des 2'-F-Atoms auf die Aufspaltung der Methylengruppe kann ausgeschlossen werden, da sich die chemischen Verschiebungen von 14a/b, mit Ausnahme der Protonen des Fluorphenylringes, kaum von dem Glycyniminderivat von N-1-Methylnitrazepam (17a/b) unterscheiden.

In der Verbindung 14b ist kein Signal für 1-H zu erkennen, das auf die Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrücke hinweist. Deshalb werden die Methylenprotonen an C-3 äquivalent und erscheinen leicht hochfeldverschoben bei 4.00 ppm. Das freie Elektronenpaar an N-4 wird nicht mehr durch die Wasserstoffbrücke beansprucht und tritt mit Ring A stärker in Wechselwirkung. Dadurch werden die zur Azomethingruppe o- und p-ständigen Protonen 6-H und 8-H gegenüber 14a um 0.14 bzw. 0.11 ppm hochfeldverschoben.

Für den aromatischen Ring A ist durch das Wegfallen der Wasserstoffbrücke Koplanarität zur C=N-Bindung nicht mehr zwingend. Er kann nach hinten umklappen und senkrechte Stellung zum Ring C einnehmen. Dadurch kommt 6'-H in 14b bzw. 16 in den positiven Anisotropiebereich des Aromaten A und erfährt eine deutliche Hochfeldverschiebung. Ähnliche Effekte werden auch in o-substituierten Benzophenonderivaten beobachtet[40,41]. Im Nebenprodukt des Glycyniminderivates von N-1-Methylnitrazepam (17b) wirkt sich dieser Effekt nicht nur auf 6'-H, sondern auch auf 2'-H aus, da hier der Phenylring C frei drehbar ist, wie auch aus der Äquivalenz von 2'- und 6'-H bzw. 3'- und 5'-H hervorgeht.

Die Übereinstimmung der chemischen Verschiebungen von 14b und 16 spricht dafür, daß es sich bei den verdoppelten Signalen um die freie Säure handelt. Da die Protonierung der Carboxylatgruppe jedoch durch das ^{1}H-NMR-Spektrum nicht direkt bewiesen werden kann (eine Messung in DMSO-d_6 scheitert an der unzureichenden Löslichkeit des Glycinimderivates), muß eine endgültige Aussage noch zurückgestellt werden. Die ähnlichen δ-Werte von 14b und 16 können, unabhängig von der Protonierung der Carboxylatgruppe, auch auf gleiche sterische Anordnung der einzelnen Atome zurückgeführt werden. Eine Aussage, ob die Methylengruppe in 14b bzw. 16 in E- oder Z-Stellung angeordnet ist, kann aufgrund des Protonenspektrums ebenfalls nicht gemacht werden.



16

3.2.3.2 Interpretation der ^{13}C-NMR-Spektren

Die Ergebnisse der ^{1}H-NMR-Spektroskopie gehen mit den ^{13}C-Spektren des Natriumsalzes (Tab. 14, Abb. 30 und 31) konform.

Im Hauptprodukt (14a) wird C-5 gegenüber 14b um 1.2 ppm zu tieferem Feld verschoben. Grund dafür ist die intramolekulare Wasserstoffbrücke, durch welche der Azomethinkohlenstoff stärker positiviert wird[38]. Auch die Entschirmung der Kohlenstoffe C-6, C-8 und C-9a gegenüber dem Nebenprodukt deutet darauf hin, daß das freie Elektronenpaar an N-4 von der Wasserstoffbrücke beansprucht wird und nicht mit Ring A in Wechselwirkung treten kann. An der Hochfeldverschiebung von C-1' ist zu erkennen, daß die 3-Methylengruppe an der Azomethinfunktion Z-ständig ist. Durch die räumliche Nähe kommt es, wie auch beim Benzophenonmethylimin[42], zu einer Abschirmung. Dieser Effekt wirkt sich auch auf die benachbarten Atome C-2' und C-6' aus.

Im Nebenprodukt (14b) beeinflußt das Elektronenpaar von N-4 durch das Fehlen der Wasserstoffbrücke die aromatischen Ringe A und C. Folglich erscheinen C-6', C-8 und C-9a hochfeldverschoben. Auch C-4' unterliegt einer leichten Abschirmung. Ein weiteres Anzeichen für die Wechselwirkung mit Aromat C ist die im Vergleich zum Hauptprodukt kleinere Kopplungskonstante zwischen C-1' und 2'-F. Die Beträge der Kopplungskonstanten steigen mit zunehmender Positivierung des koppelnden Kohlenstoffatomes an. Aus der kleineren Kopplungskonstante von 14b kann deshalb geschlossen werden, daß C-1' eine negative Partialladung trägt, die durch das n-Elektronenpaar von N-4 hervorgerufen wird. Bei den chemischen Verschiebungen von C-1', C-2' und C-6' überwiegt jedoch ein anderer Effekt: Gegenüber 14a treten die genannten C-Atome bei tieferem Feld in Resonanz, da die 3-Methylengruppe in E-Stellung angeordnet und somit weiter von Ring C entfernt ist.

Die ähnlichen chemischen Verschiebungen von C-2 in Haupt- und Nebenprodukt lassen vermuten, daß in 14b keine Protonierung der Carboxylatgruppe erfolgt ist (C-2 erscheint in der freien Säure im Lösungsmittelgemisch $CDCl_3$/DMSO-d_6 bei 173.4 ppm).

Es besteht jedoch die Möglichkeit, daß die Carboxylatgruppe in 14b protoniert ist, und C-2 nur deshalb kein diamagnetisches Verhalten aufweist, weil sich im wäßrigen Milieu Wasserstoffbrücken mit dem Lösungsmittel ausbilden, die eine Entschirmung des Carboxyl-Kohlenstoffes zur Folge haben. Ein direkter Vergleich mit der freien Säure scheitert jedoch daran, daß sich diese in D_2O zu schlecht löst, so daß offen bleiben muß, ob 14b in der protonierten oder anionischen Form vorliegt.

3.2.4 Diskussion der Ergebnisse

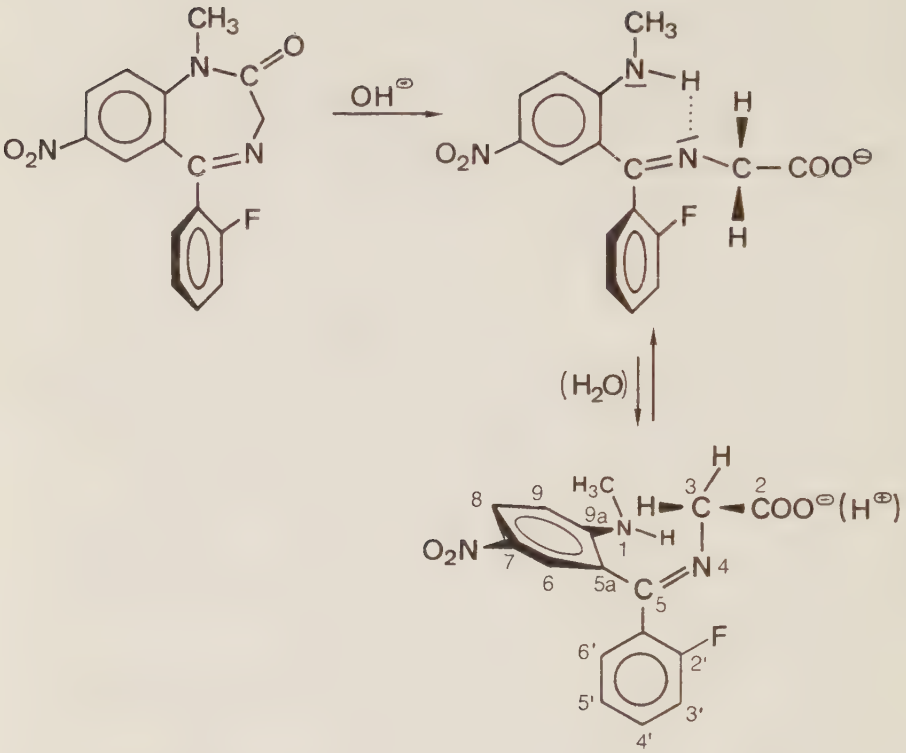
Durch UV-, IR und NMR-Spektroskopie konnte bewiesen werden, daß aus Flunitrazepam beim Tüpfeln mit Alkali dessen gelb gefärbtes Glyciniminderivat (14) entsteht. Die Bildung des ebenfalls gelb gefärbten Benzophenonderivates (15) konnte bereits durch UV- und IR-spektroskopische Untersuchungen ausgeschlossen werden.

Die Ringöffnung zeigt sich im Elektronenspektrum durch bathochrome Verschiebung des Maximums von 305 nm in Flunitrazepam zu 378 ± 10 nm (lösungsmittelabhängig) im basischen Hydrolysat, bedingt durch erweiterte Mesomeriemöglichkeiten. Beim Vergleich der IR-Spektren wird der Übergang der Lactam-Carbonyl-Gruppe (1690 cm^{-1}) in die Carboxylatgruppe (1600 cm^{-1}) sichtbar. Außerdem erscheint die Bande für die N-H-Valenzschwingung bei 3400 cm^{-1}. Der Übergang des tertiären Amids in ein sekundäres Amin bewirkt eine Verschiebung der C-H-Valenzen von 1325 bzw. 1250 cm^{-1} zu 1295 bzw. 1265 cm^{-1}.

Die Ergebnisse der NMR-Spektroskopie bestätigen die der UV- und IR-Untersuchungen und gestatten darüberhinaus eine Konformationsanalyse des Glyciniminderivates. Durch den verstärkten +M-Effekt der Methylaminogruppe werden die o- und p-ständigen C-Atome abgeschirmt. C-9a erfährt aufgrund seiner Immoniumteilstruktur eine Tieffeldshift.

Das Glyciniminderivat liegt direkt nach dem Lösen nur in einer Form (14a) vor. Im ^1H-Spektrum erscheint das Signal bei 8.46 ppm konzentrationsunabhängig und weist auf eine intramolekulare

Wasserstoffbrücke zwischen 1-H und N-4 hin. Dadurch werden die 3-Methylenprotonen inäquivalent. Das bei höherem Feld in Resonanz tretende Proton gelangt in den positiven Anisotropiebereich des Fluorphenylringes. Im ^{13}C-Experiment wird anhand der Abschirmung von C-1' deutlich, daß die 3-H_2-Gruppe an der Azomethinfunktion in Z-Stellung angeordnet ist.
Die ^{1}H-NMR-Spektren von 14a/b und 16 zeigen, daß im Nebenprodukt des Glyciniminderivates (14b) und in der freien Säure (16) gleiche konformative Verhältnisse gegeben sind. Das Vorliegen der freien Säure im Nebenprodukt 14b kann jedoch nicht eindeutig bewiesen werden, da ein direkter Vergleich mit der freien Säure am unterschiedlichen Löslichkeitsverhalten scheitert. Eine intramolekulare Wasserstoffbrücke bildet sich nicht aus. Dadurch wird die Rotation der Methylengruppe erleichtert und die 3-H_2-Protonen erscheinen äquivalent. 6'-H gelangt in den abschirmenden Ringstrombereich des Nitroaromaten, der senkrechte Stellung zum Fluorphenylring und zur π-Orbitalebene der Azomethingruppe einnimmt. Das freie Elektronenpaar an N-4 tritt mit Ring A und C in Wechselwirkung. Dadurch werden 6-H und 8-H hochfeldverschoben. Im ^{13}C-Spektrum ist dies am diamagnetischen Verhalten der Kohlenstoffe C-6, C-8 und C-9a zu erkennen. Weiterhin wird anhand der Hochfeldverschiebung von C-4' und der kleineren Kopplungskonstanten zwischen C-1' und 2'-F deutlich, daß das Elektronenpaar von N-4 im Nebenprodukt auch Ring C beeinflußt. Aus den chemischen Verschiebungen von C-1', C-2' und C-6' geht hervor, daß die Methylengruppe in 14b in E-Stellung angeordnet ist. Die genannten Atome treten gegenüber dem Hauptprodukt tieffeldverschoben in Resonanz, da die Abschirmung durch die Methylengruppe im E-Isomer nicht mehr gegeben ist.
Somit sind die im Laufe der Zeit auftretenden Signalverdopplungen auf die Entstehung des E-Isomers (14b) des Glycinderivates zurückzuführen (Schema 4).



Schema 4: Reaktion von Flunitrazepam unter Einwirkung von Alkali

4 Zusammenfassung

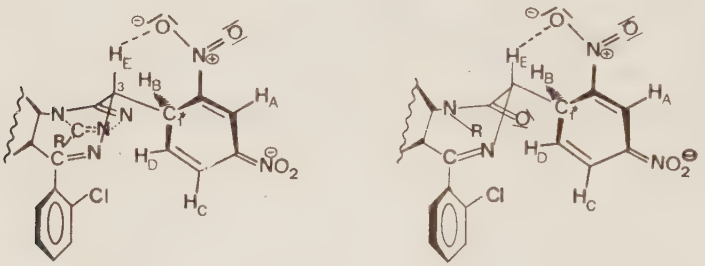
LINDEN (Dissertation 1982) fielen in den ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren der violetten MEISENHEIMER Salze von Diazepam und Prazepam Signalverdopplungen auf, deren Struktur und Konformation zur Diskussion stehen. Durch Untersuchung der MEISENHEIMER Komplexe von Thieno-, Triazolo- und 2'-halogenierten Benzodiazepinen sollte ein weiterer Beitrag zur Stereochemie der genannten Verbindungen geleistet werden. Nicht nur Nitrazepam, sondern auch Clonazepam, Bromazepam und Flunitrazepam reagieren direkt mit Lauge unter Gelbfärbung. Von ersteren kennt man Struktur und Ladungsverteilung seines Alkalisalzes, von den anderen bisher noch nicht.

Auch die violetten MEISENHEIMER Salze der Thieno-, Triazolo- und 2'-halogenierten Benzodiazepine mit 1,3-Dinitrobenzol und Lauge zeigen in den ^{1}H-NMR-Spektren Signalverdopplungen im Verhältnis 80:20 ± 15%, die auf unterschiedliche Konformationen zurückgeführt werden. Wie am paramagnetischen Verhalten von H_E gegenüber dem axialen Proton der 3-Methylengruppe bei den Ausgangsverbindungen zu erkennen ist, wird im Hauptprodukt eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen H_E und der Nitrogruppe an C-2* ausgebildet. Aus der Wechselwirkung zwischen dem Triazoloring und H_B kann geschlossen werden, daß H_B in dessen Richtung weist. Dies äußert sich in einer deutlichen Entschirmung von H_B in den Triazoloderivaten gegenüber den Benzodiazepinen mit Carbonylfunktion an C-2. Dementsprechend hat das Halogenatom bei den 2'-chlorierten Verbindungen keinen Einfluß auf H_B. Hier zeigen die Protonen des Dinitrocyclohexadienatringes, die dem Halogenatom nahestehen, diamagnetisches Verhalten. Der Einfluß von 2'-Chlor wirkt sich durch seine räumliche Nähe vor allem auf H_C aus, das im Vergleich zu den entsprechenden 2'-unsubstituierten Derivaten um 0.09 ppm hochfeldverschoben in Resonanz tritt. Damit gelingt eine eindeutige Aussage über die Konformation des Hauptproduktes (1b'). Weiterhin ergab sich aus den ^{1}H-NMR-Spektren, daß im Nebenprodukt die Konformation 1c vorliegt. Begründet

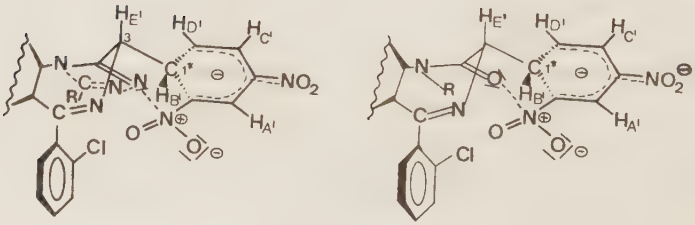
wird dies durch die Abschirmung von H_B, durch das Chloratom in Position 2' und die unbeeinflußten ppm-Werte der Protonen H_C, und H_D, in den 2'-Chlor- und Triazoloderivaten. Die Stabilisierung erfolgt im Nebenprodukt durch elektrostatische Wechselwirkung des positivierten N-Atoms der 2*-Nitrogruppe mit dem Sauerstoff der C-2-Carbonylfunktion bzw. dem Stickstoffatom der Azomethinteilstruktur in den Triazoloderivaten.

Haupt- und Nebenprodukt bilden Rotamere. Die freie Drehbarkeit um die C-3/C-1*-Bindungsachse wird durch sterische Hinderung der C-2-Azomethin-Teilstruktur bzw. der C-2-Carbonylfunktion mit der Nitrogruppe an C-2* eingeschränkt.

Damit können die stereochemischen Verhältnisse von Haupt- und Nebenprodukt in den MEISENHEIMER Salzen der Thieno-, Triazolo- und 2'-halogenierten Verbindungen eindeutig geklärt werden.

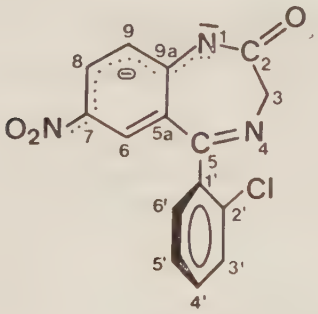


1b'

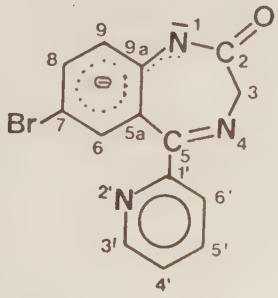


1c

Nach den ^{1}H- und ^{13}C-Messungen von Clonazepam und Bromazepam auf Zusatz von Alkali ist die Gelbfärbung auf die Bildung eines Natriumsalzes zurückzuführen. C-2 bleibt in beiden Fällen unbeeinflußt. Dies zeigt, daß die Carbonylgruppe am mesomeren System nicht beteiligt ist. Anders als bei Nitrazepam (LINDEN), erfolgt im Natriumsalz von Clonazepam (5b) die Delokalisierung der negativen Ladung über die Kohlenstoffe C-9a, C-9, C-8 und C-7 zur Nitrogruppe. Der Beweis hierfür wird durch das paramagnetische Verhalten von C-6 und die Tieffeldverschiebung von C-8 geliefert. Im ^{1}H-Experiment äußert sich dies durch verstärkte Abschirmung von 8-H und 9-H im Vergleich zu 6-H. Im Natriumsalz von Bromazepam (6b) verteilt sich die negative Ladung gleichmäßig über den annellierten Aromaten. C-6 und C-8 werden in ähnlichem Ausmaß hochfeldverschoben, während C-9 und C-9a -wie auch bei Nitrazepam und Clonazepam- im Tieffeldbereich des deprotonierten Stickstoffes angeordnet sind. C-7 wird durch die negative Partialladung in beiden Fällen abgeschirmt.



5b

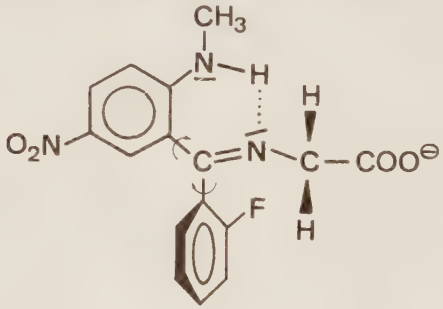


6b

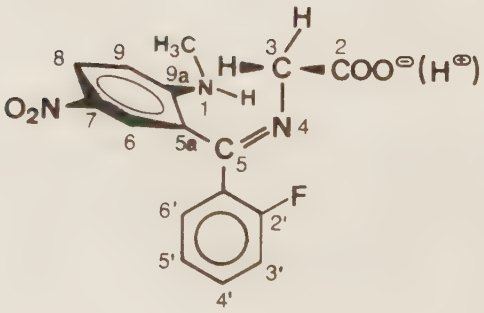
Die Gelbfärbung von Flunitrazepam mit Lauge ist auf die Bildung seines Glyciniminderivates zurückzuführen. Das Vorliegen von 2-Methylamino-5-nitro-2'-fluor-benzophenon konnte durch DC, UV und IR ausgeschlossen werden. Nach den NMR-Spektren existiert das Glyciniminderivat in zwei verschiedenen Formen. Anfänglich liegt es als Z-Isomer mit einer

intramolekularen Wasserstoffbrücke von 1-H zu N-4 vor. Die Methylenprotonen sind dadurch inäquivalent. C-1', C-2' und C-6' werden bei 14a durch die räumliche Nähe der Methylengruppe abgeschirmt.

Daneben entsteht in Lösung das E-Isomer 14b . Die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke ist erschwert und die 3-H_2-Protonen sind äquivalent. Die Kohlenstoffe in Position 6, 8 und 9a absorbieren durch Wechselwirkung mit dem n-Elektronenpaar von N-4, das nicht von einer Wasserstoffbrücke beansprucht wird, bei höherem Feld als die entsprechenden Kohlenstoffe in 14a. Der annellierte aromatische Ring nimmt senkrechte Stellung zum π-Orbital der Azomethingruppe ein. Dies ist an der Hochfeldverschiebung von 6'-H zu erkennen, das dadurch in den positiven Ringstrombereich des annellierten Aromaten gelangt.



14a



14b

5 Experimenteller Teil

5.1 Geräte und Methoden

5.1.1 Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte der einzelnen Verbindungen wurden mit einem Schmelzpunktapparat nach Tottoli, Büchi 510, der Firma Büchi ermittelt und unkorrigiert angegeben.

5.1.2 Infrarotspektroskopie

Beckman Spectrometer 4250. Die Spektrenaufnahme erfolgte in KBr-Preßlingen.

5.1.3 Elektronenspektroskopie

Die Messungen wurden an einem Beckman Spectrophotometer Modell 24 Perkin Elmer in Quarzküvetten (Schichtdicke 1 cm) durchgeführt.

5.1.4 Kernresonanzspektroskopie

80 MHz-^{1}H-Spektren:	Bruker WP 80, Meßtemperatur 28°C; Spektrenbreite 1250 Hz.
20,115 MHz-^{13}C-Spektren:	Bruker WP 80, Meßtemperatur 28°C; Spektrenbreite 5000 Hz.

Die Steuerung des Kernresonanzspektrometers Bruker WP 80, die Spektrenakkumulation und Fourier-Transformation erfolgte mit der Computereinheit Bruker BNC 28.

22,63 MHz-^{13}C-Spektren:	Bruker WH 90 mit Datensystem Aspect 2000, Meßtemperatur 28°C.
400 MHz-^{1}H-Spektren:	Bruker WM 400, supraleitender Magnet mit angeschlossenem Computer Aspect 2000, Meßtemperatur 28°C.
100,57 MHz-^{13}C-Spektren:	Bruker WM 400, supraleitender Magnet mit angeschlossenem Computer Aspect 2000, Meßtemperatur 28°C.

Interner Standard war TMS bzw. das Signal des verwendeten Lösungsmittels.

Die Natriumsalze von Clonazepam und Bromazepam wurden in der Weise vermessen, daß 0,05 mmol des Benzodiazepins (157,9 mg Clonazepam bzw. 158,1 mg Bromazepam) mit 10 Tr. 3 N-NaOD versetzt und in 1,0 ml DMSO-d_6 gelöst wurden.

5.2 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektren der Benzodiazepine 4a - 13a

5.2.1 ^{1}H-NMR-Spektrum von Nitrazepam (4a)

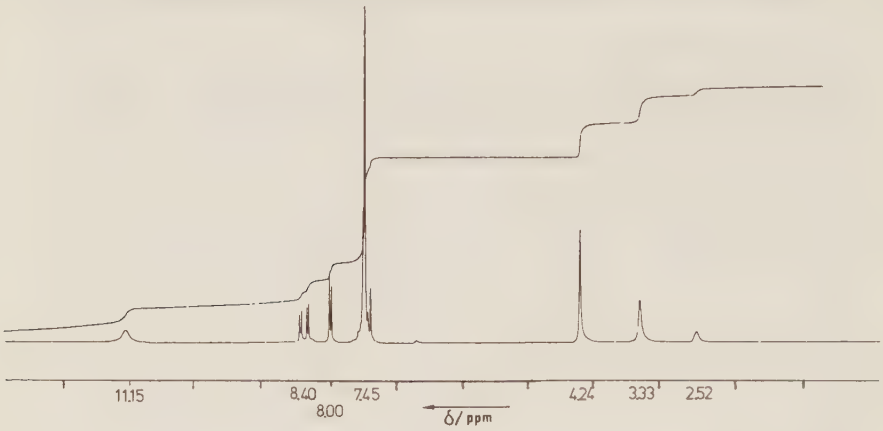


Abb. 36: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Nitrazepam in DMSO-d_6

Tab. 17: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von Nitrazepam (4a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
11.15	1-H	-
8.40	8-H	d ^oJ = 9 d ^mJ = 3
8.00	6-H	d ^mJ = 3
7.49-7.46	$H_{aromat.}$	
7.45	9-H	d ^oJ = 9
4.24	3-H_2	-
3.33	H_2O	-
2.52	DMSO	

5.2.2 ^{1}H-NMR-Spektrum von Clonazepam (5a)

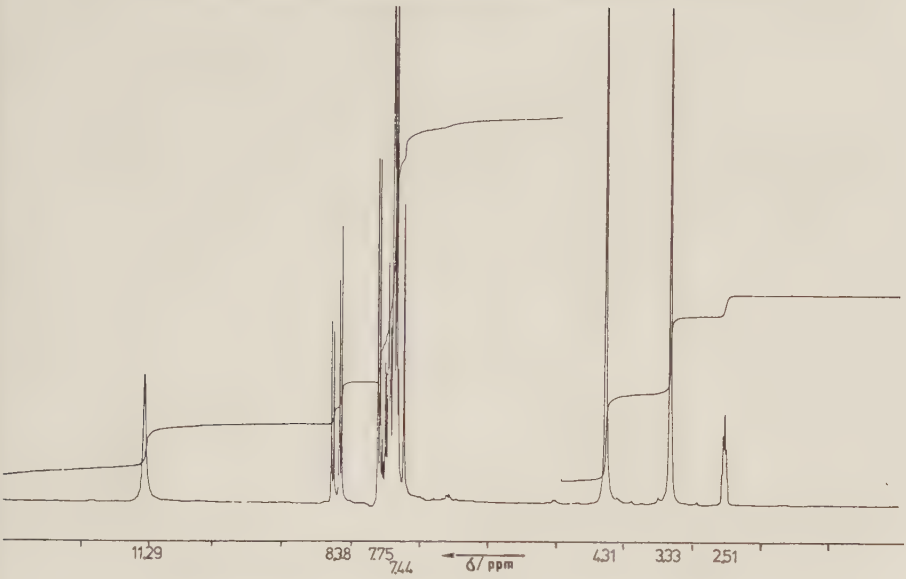


Abb. 37: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Clonazepam (5a) in DMSO-d_6

Tab. 18: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von Clonazepam (5a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
11.29	1-H	-
8.38	8-H	d ^{o}J = 9 d ^{m}J = 2,5
7.75	6-H	d ^{m}J = 2,5
7.6-7.46	$H_{aromat.}$	
7.44	9-H	d ^{o}J = 9
4.31	3-H_2	-
3.33	H_2O	-
2.51	DMSO	

5.2.3 ^{1}H-Spektrum von Bromazepam (6a) in DMSO-d_6

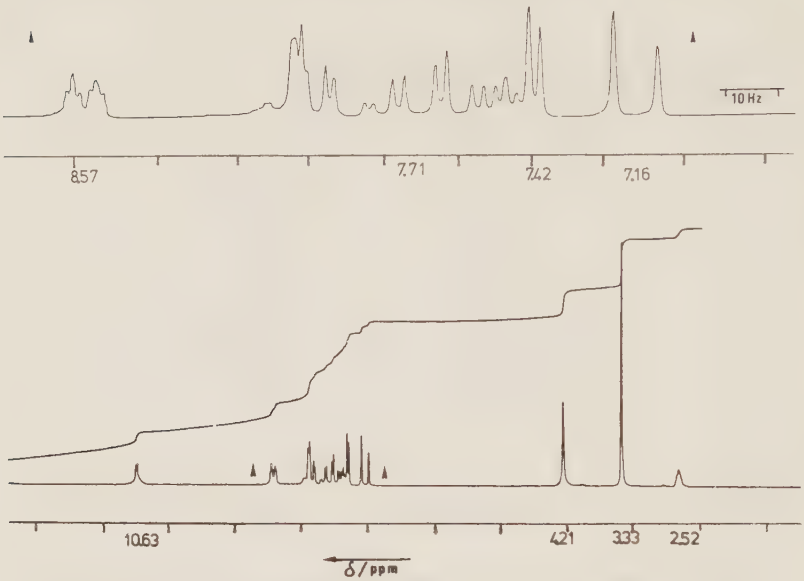


Abb. 38: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Bromazepam (6a) in DMSO-d_6

Tab. 19: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von Bromazepam (6a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
10.63	1-H	-
8.57	3'-H	d ^{o}J = 4,5 t $^{m,p}J$ = 1,25
8.1-7.5	$H_{aromat.}$	
7.71	8-H	d ^{o}J = 9 d ^{m}J = 2,25
7.42	6-H	d ^{m}J = 2,25
7.16	9-H	d ^{o}J = 9
4.21	3-H_2	-
3.33	H_2O	-
2.52	DMSO	

5.2.4 ^{1}H-NMR-Spektrum von Triazolam (8a)

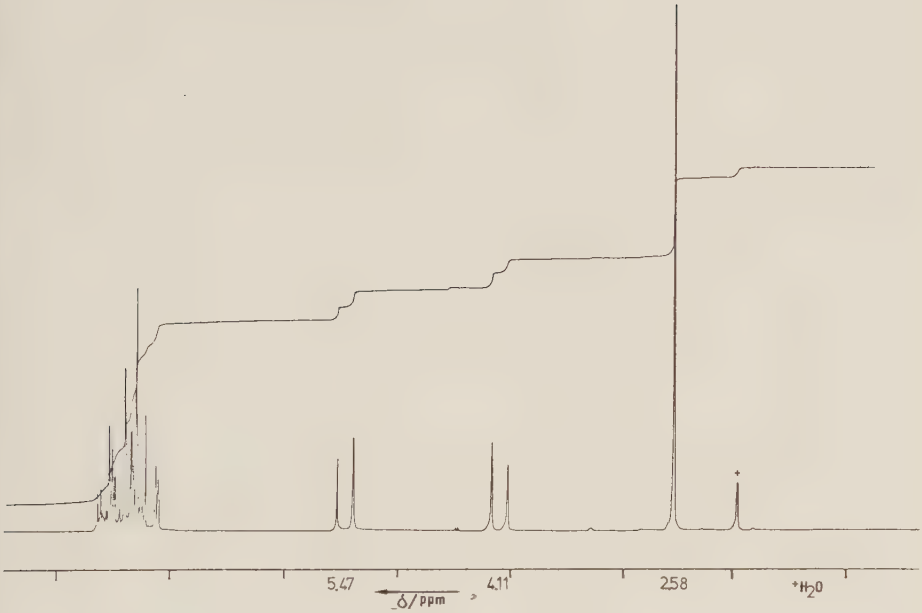


Abb. 39: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Triazolam (8a) in $CDCl_3$

Tab. 20: Zuordung der ^{1}H-Resonanzen von Triazolam (8a) in $CDCl_3$

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
7.65-7.13	$H_{aromat.}$	
5.47	3b-H	d ^2J = 13,0
4.11	3a-H	d ^2J = 13,0
2.58	13-H_3	

5.2.5 ^{1}H-NMR-Spektrum von Brotizolam (9a)

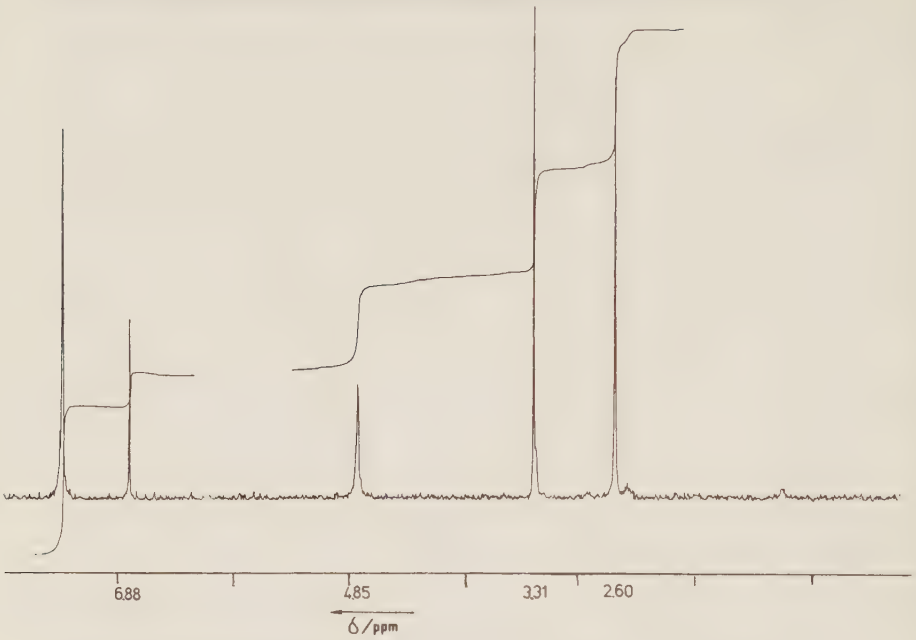


Abb. 40: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Brotizolam (9a) in DMSO-d_6

Tab. 21: Zuordung der ^{1}H-Resonanzen von Brotizolam (9a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
7.50-7.45	$H_{aromat.}$	-
6.88	6-H	S
4.85	3-H_2	S
3.31	H_2O	-
2.60	12-H_3	S

5.2.6 ^{1}H-NMR-Spektrum von Clotiazepam (10a)

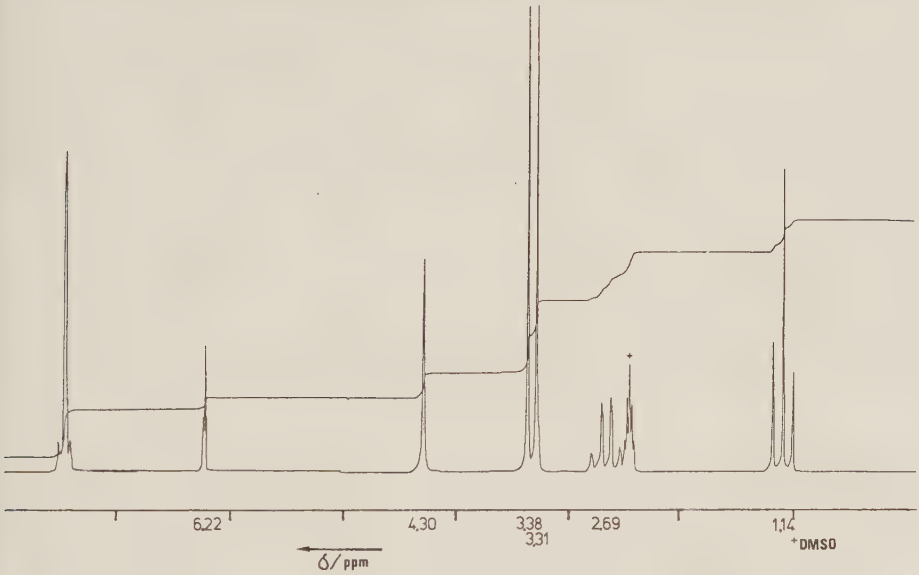


Abb. 41: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von Clotiazepam (10a) in DMSO-d_6

Tab. 22: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von Clotiazepam (10a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
7.5-7.4	$H_{aromat.}$	-
6.22	6-H	t ^4J = 1,0
4.30	3-H_2	
3.38	9-H_3	
3.31	H_2O	
2.69	10-H_2	q ^3J = 7,5 d ^4J = 1,0
1.14	11-H_3	t ^3J = 7,5

5.2.7 ^{1}H-NMR-Spektrum von 2'-Chlordiazepam (11a) in CD_3CN

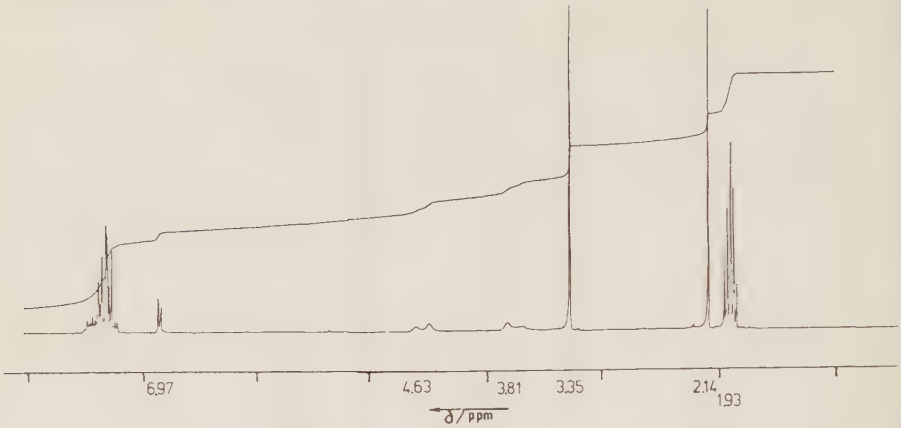


Abb. 42: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von 2'-Chlordiazepam (11a) in CD_3CN

Tab. 23: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von 2'-Chlordiazepam (11a) in CD_3CN

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
7.64-7.35	$H_{aromat.}$	
6.97	5'-H	
4.63	3b-H	d ^{2}J = 11,0
3.81	3a-H	d ^{2}J = 11,0
3.35	10-H_3	-
2.14	H_2O	-
1.93	CHD_2CN	

5.2.8 ^{1}H-NMR-Spektrum von N-1-Methylclonazepam (12a) in $CDCl_3$

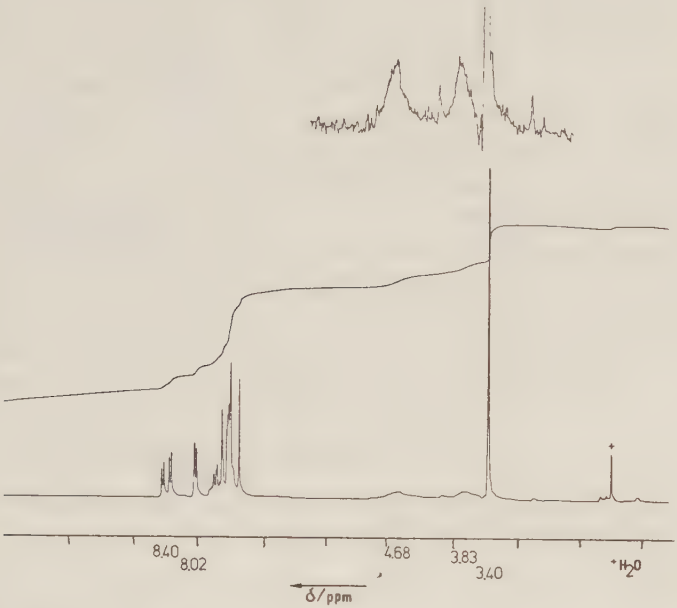


Abb. 43: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von N-1-Methylclonazepam (12a) in $CDCl_3$

Tab. 24: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von N-1-Methylclonazepam (12a) in $CDCl_3$

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
8.40	8-H	d ^{o}J = 9,0 d ^{m}J = 3,0
8.02	6-H	d ^{m}J = 3,0
7.87-7.27	$H_{aromat.}$	
4.68	3b-H	m
3.83	3a-H	m
3.40	10-H_3	

5.2.9 ^{1}H-NMR-Spektrum von N-1-Methylnitrazepam (13a) in DMSO-d_6

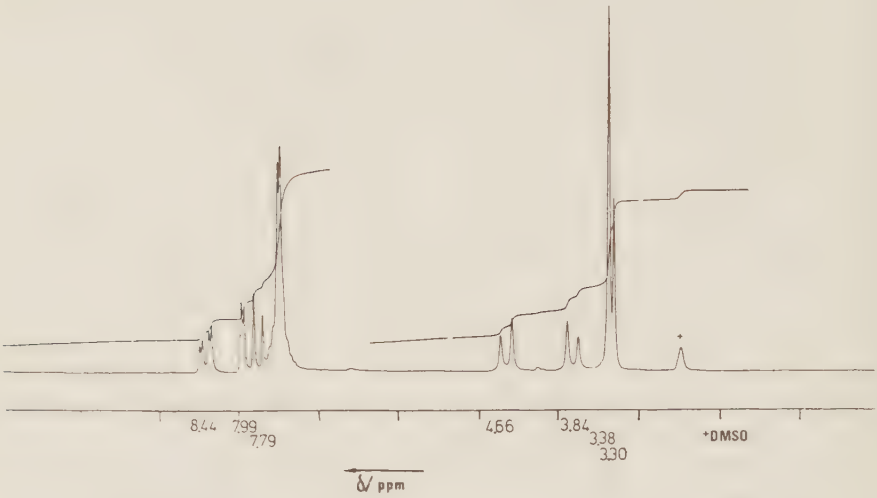


Abb. 44: 80 MHz-^{1}H-Spektrum von N-1-Methylnitrazepam (13a) in DMSO-d_6

Tab. 25: Zuordung der ^{1}H-Resonanzen von N-1-Methylnitrazepam (13a) in DMSO-d_6

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
8.44	8-H	d ^{o}J = 9,0 d ^{m}J = 3,0
7.99	6-H	d ^{m}J = 3,0
7.79	9-H	d ^{o}J = 9,0
7.65-7.51	$H_{aromat.}$	
4.66	3b-H	d ^{2}J = 11,0
3.84	3a-H	d ^{2}J = 11,0
3.38	10-H_3	
3.30	H_2O	

5.3 Darstellung von N-1-Methylclonazepam

3,16 g (0,01 mol) Clonazepam, gelöst in 50 ml Methanol, werden mit 11 ml einer 1 N-$NaOCH_3$-Lösung in das Natriumsalz überführt. Das Methanol wird im Vakuum abgezogen und das Natriumderivat in 20 ml Dimethylformamid gelöst. Bei Raumtemperatur läßt man langsam 4,74 g (0,033 mol) Methyliodid zutropfen, wobei sich die Lösung orange färbt. Nach 1/2 h Rühren wird die Hauptmenge des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Fraktion wird über Natriumsulfat getrocknet und der Rückstand zweimal aus einem Ethanol-Chloroformgemisch umkristallisiert. Ausbeute: 1,026 g (31% d.Th.) gelbliche Kristalle, Smp.: 190°C (^{1}H-NMR-Spektrum s.S. 103, Abb. 43, Tab. 24).

5.4 Darstellung der MEISENHEIMER Salze

5.4.1 Darstellung der MEISENHEIMER Salze etherlöslicher Benzodiazepine mit DNB und Tetramethylammoniumhydroxid[8)]

5 mmol des Benzodiazepins und 2,5 mmol DNB werden in 300 ml Ether gelöst, der vorher über eine Säule mit basischem Aluminiumoxid wasser- und peroxidfrei gemacht wurde.
Zu dieser Lösung wird unter schnellem Rühren 20 ml einer 0,1 N-Tetramethylammoniumhydroxidlösung in Isopropanol/Methanol tropfenweise zugegeben, wobei sofort ein dicker blauer Niederschlag ausfällt. Der Farbstoff wird nach einer Minute abzentrifugiert und mehrmals mit absolutem peroxidfreiem Ether gewaschen, bis die Blindproben auf DNB, TMAH und Benzodiazepin negativ ausfallen.

5.4.2 Darstellung der MEISENHEIMER Salze etherunlöslicher Benzodiazepine

0,25 mmol Benzodiazepin und 0,25 mmol DNB werden in 10 ml Chloroform gelöst. Nach der Zugabe von 2,5 ml 0,1 N-Tetramethylammoniumhydroxidlösung in Isopropanol/Methanol wird das gebildete blauviolette MEISENHEIMER Produkt sofort mit

200 ml absolutem peroxidfreiem Ether ausgefällt. Der Niederschlag wird umgehend abzentrifugiert und mehrmals mit Ether gewaschen.
Ausbeute: 25 - 35% d.Th.

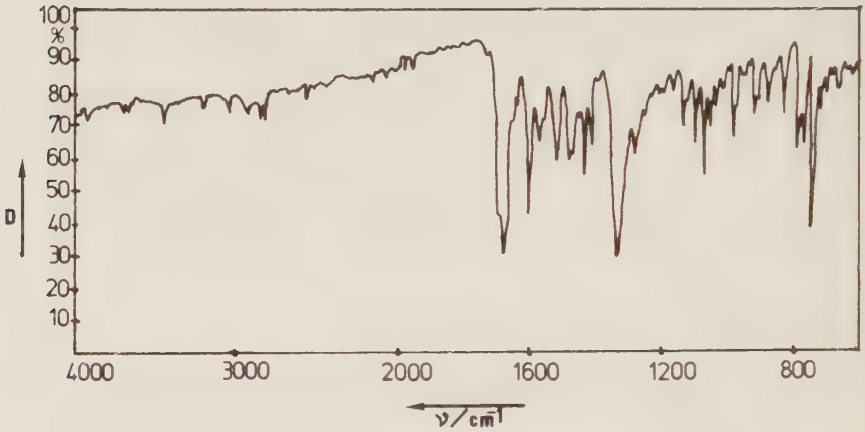


Abb. 45: IR-Spektrum von N-1-Methylclonazepam (12a) (KBr-Preßling)

3020 cm^{-1}	C-H-Valenzschwingung der Aromaten
2900, 2840 cm^{-1}	C-H-Valenz der CH_2- und CH_3-Gruppe
1675 cm^{-1}	Valenzschwingung der Amid-Carbonyl-Gruppe
1600, 1560, 1510 cm^{-1}	C=C-Valenzschwingung der Aromaten
1510, 1330 cm^{-1}	N-O-Valenzschwingung
1310, 1270 cm^{-1}	C-N-Valenzschwingung
1065 cm^{-1}	Aryl-Cl-Schwingung
810 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung (2 benachbarte H in trisubstituiertem Aromat)
740 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung (1.2-disubstituierter Aromat)

5.5 Spektroskopische Charakterisierung von Flunitrazepam (7a)

Tab. 26: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen von Flunitrazepam

ppm[1]	ppm[2]	LPN	gefundene Multiplizität	J_{CH} (Hz)	Zuordnung
168.8	168.6	x	$S_{sextett}$	3 mit 10-H_3,3-H_2	C-2
165.1	165.6	x	S_m		C-5
160.0	160.4	x	D_m	251,5 (F)	C-2'
147.6	147.6	x	S_t d	7,5 mit 6,8-H_2 4,5 mit 9-H	C-9a
142.6	143.0	x	S_d t	9 mit 9-H 4,5 mit 6,8-H_2	C-7
133.0	133.0		D_t	168 mit 4'-H 7,5 mit 2'-F 6'-H	C-4'
131,6	131,5		D d d	168 mit 6'-H 3 mit 2'-F 7,5 mit 4'-H	C-6'
129.6	130.1	x	S_d d	7 mit 9-H ca.2 mit 2'-F	C-5a
126.3	126.3		D_d	175,5 mit 8-H 6 mit 6-H	C-8
126.2	126.2	x	S_d t	12 mit 2'-F 6 mit 3'5'-H_2	C-1'
124.8	124.7		D d d	174 mit 6-H 3,5 mit 2'-F 9 mit 8-H	C-6
124.1	124.5		D d d	171 mit 5'-H 7,5 mit 3'-H 4 mit 2'-F	C-5'
123.3	122.7		D	171 mit 9-H	C-9
116.2	116.3		D d d	168 mit 3'-H 22 mit 2'-F 9 mit 5'-H	C-3'
56.8	56.9		DD	145,5 mit 3-H_a 150 mit 3-H_b	C-3
34.6	34.9		Q	144 mit 10-H_3	C-10

[1]ppm in DMSO-d_6 [2]ppm in $CDCl_3$/DMSO-d_6

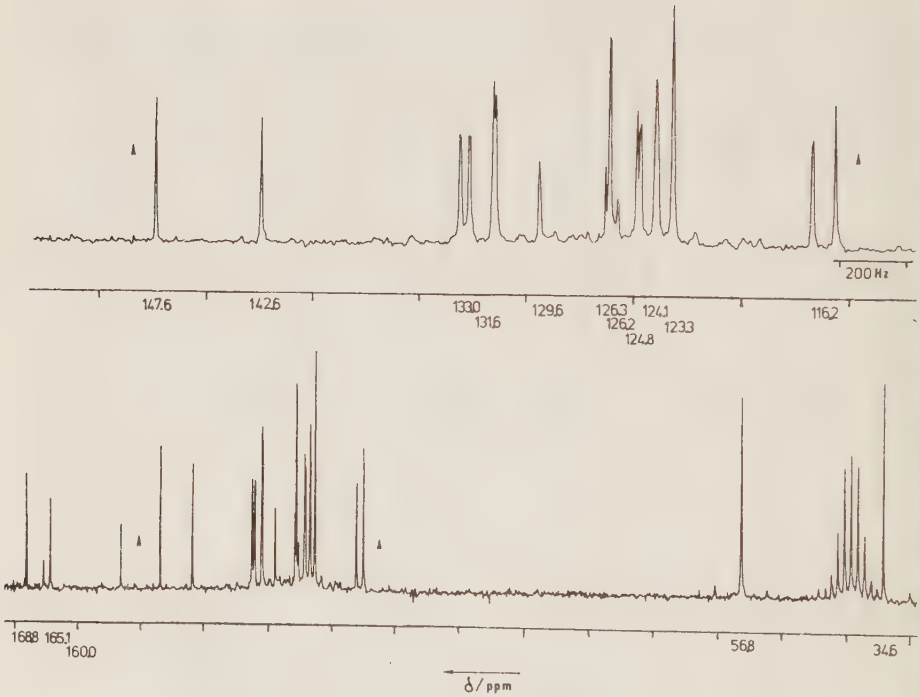


Abb. 46: ^{13}C-NMR-Spektrum von Flunitrazepam (7a) in DMSO-d_6 (breitbandentkoppelt) (20,115 MHz), darüber: gespreizter Aromatenteil

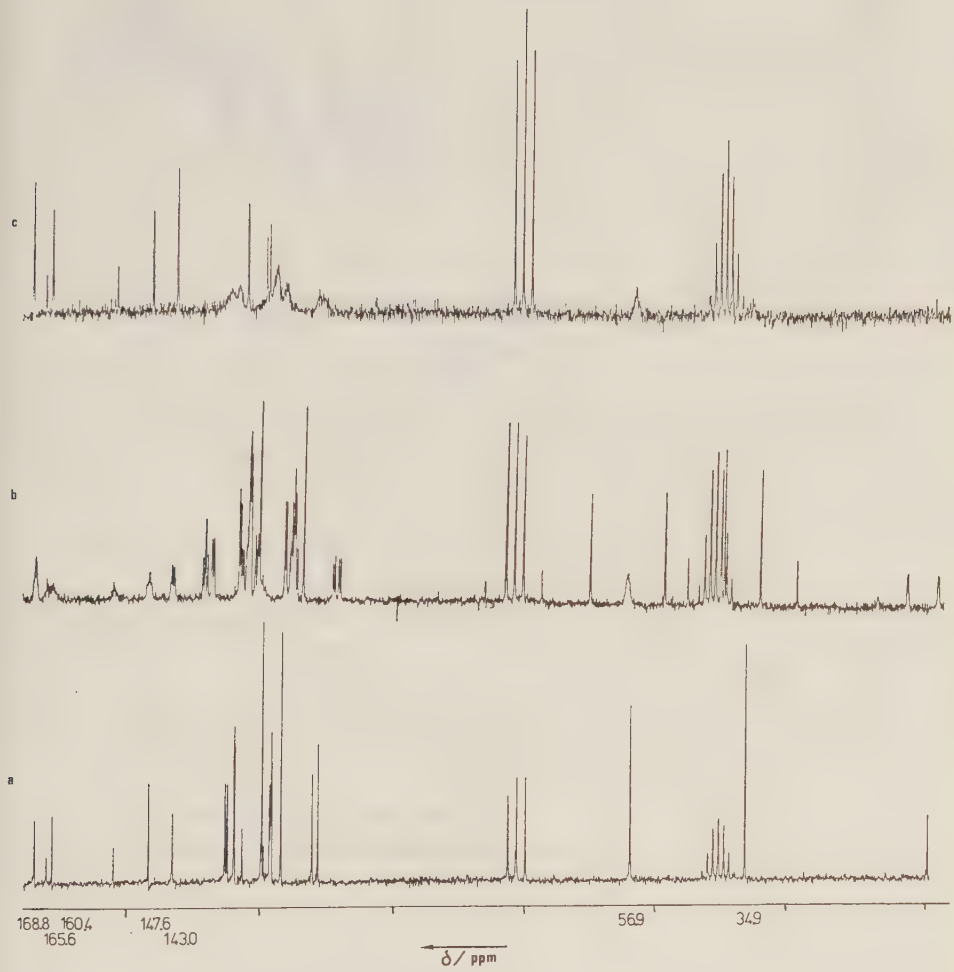


Abb. 47: ^{13}C-NMR-Spektren von Flunitrazepam (7a) in $CDCl_3$/ DMSO-d_6 (20,115 MHz)
a) breitbandentkoppelt
b) gated decoupling
c) low-power-noise-decoupling

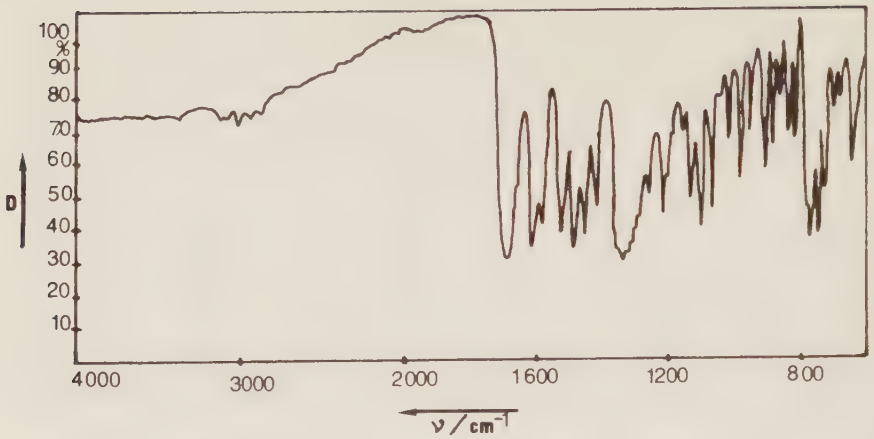


Abb. 48: IR-Spektrum von Flunitrazepam (7a) (KBr-Preßling)

3100, 3000 cm^{-1}	Aryl-H-Valenzschwingungen
2920, 2860 cm^{-1}	CH_2-, CH_3-Valenz
1690 cm^{-1}	C=O-Valenz
1600, 1575, 1495 cm^{-1}	C=O-Valenzschwingung des Aromaten
1520, 1345 cm^{-1}	N-O-Valenz
1325, 1250 cm^{-1}	C-N-Valenz (tertiäres aromatisches Amid)
1100 cm^{-1}	Aryl-F-Schwingung
810 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung des Nitroaromaten (2 H-Atome benachbart)
750 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung des Fluorphenylringes (4 H-Atome benachbart)

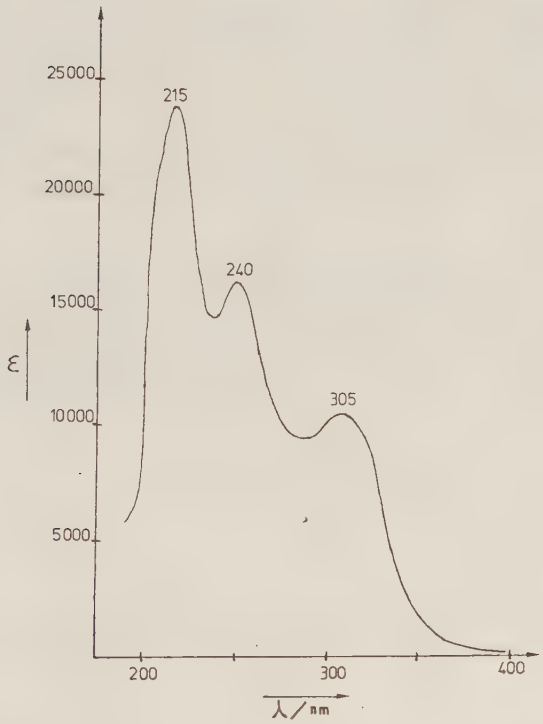


Abb. 49: Elektronenspektrum von Flunitrazepam (7a) in abs. Ethanol ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l)

5.6 Darstellung der Spaltprodukte von Flunitrazepam

5.6.1 Saure Hydrolyse zum Benzophenonderivat (15)[43)]

Ca. 500 mg Flunitrazepam werden in einer Mischung aus je 25 ml 24proz. Salzsäure und 90proz. Ethanol am Rückfluß 10 min. erhitzt. Nach dem Erkalten wird neutralisiert und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherauszüge werden über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird aus einem Chloroform-Methanolgemisch umkristallisiert. Die Substanz besteht aus gelben Kristallen, die bei 186° schmelzen.

Tab. 26: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen von 2-Methylamino-5-nitro-2'-fluorbenzophenon (15) in $CDCl_3$

ppm	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
9.45	1-H	
8.24	8-H	d ^oJ = 9
		d ^mJ = 3
7.47	6-H	d ^mJ = 3
7.45-7.0	$H_{aromat.}$	
6.75	9-H	d ^oJ = 9
3.09	10-H_3	d ^3J = 4,5 (mit 1-H)

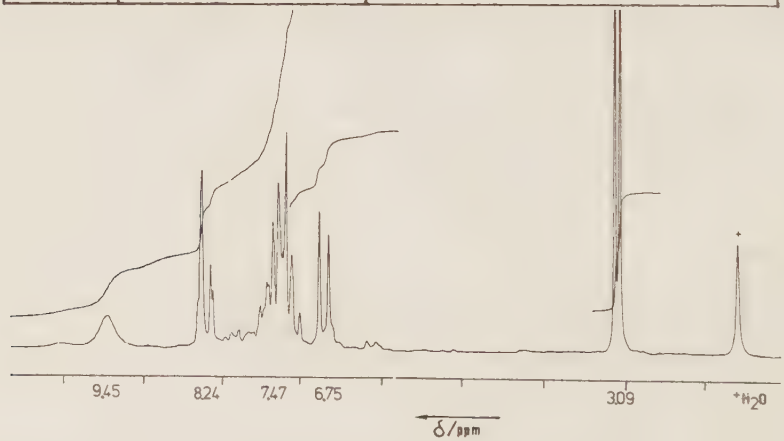


Abb. 50: 80 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum von 15 in $CDCl_3$

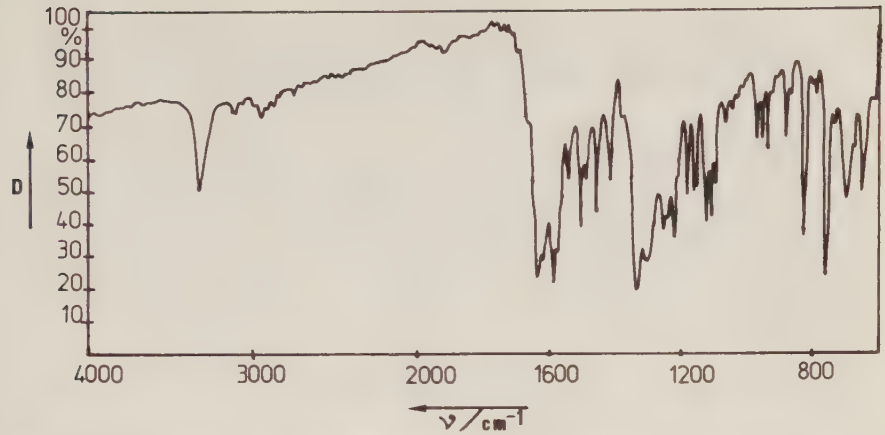


Abb. 51: IR-Spektrum des Benzophenonderivates von Flunitrazepam (15) (KBr-Preßling)

Folgende Unterschiede treten gegenüber dem IR-Spektrum von Flunitrazepam (Abb. 45) auf:

3310	cm^{-1}	N-H-Valenzschwingung
1640	cm^{-1}	C=O-Valenz des aromatischen Ketons
1290, 1250	cm^{-1}	C-N-Valenz des sekundären aromatischen Amins

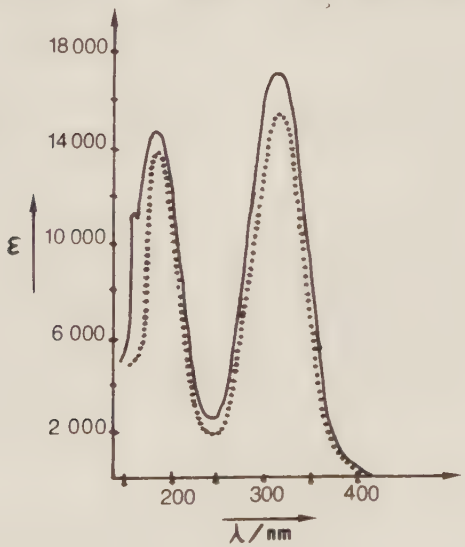


Abb. 52: Elektronenspektrum von 15 ($c = 10^{-4}$ mol/l)
——— in abs. Ethanol
·····in 0,1 N-NaOH

5.6.2 Alkalische Hydrolyse von Flunitrazepam (7a) und N-1-Methylnitrazepam (13a) zum Glyciniminderivat[44)]

Ca. 500 mg Flunitrazepam werden mit 10 ml 3 N-NaOH versetzt und bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet. Danach wird mit je 25 ml Ether und Chloroform gewaschen um nicht umgesetztes Flunitrazepam oder eventuell entstandenes Benzophenonderivat zu entfernen. Das gelborange amorphe Glyciniminderivat von Flunitrazepam zersetzt sich ab 237°C.
Die Herstellung von 17 erfolgt ausgehend von N-1-Methylnitrazepam analog. 17 zersetzt sich ab 225°C.

5.6.3 Reindarstellung des gelben Farbstoffes aus Flunitrazepam und Lauge

Zur Isolierung des gelben Tüpfelproduktes werden 200 mg Flunitrazepam mit 2 ml 0,5 N-ethanol. KOH versetzt, und das entstandene Farbsalz über eine Kieselgel-60-Säule von nicht umgesetztem Flunitrazepam abgetrennt. Als Fließmittel wird ein Chloroform-Methanolgemisch (60+40) verwendet. Die gefärbte Fraktion wird gesammelt, eingedampft und getrocknet. Der Rückstand zersetzt sich ab 237°C.

5.6.4 Isolierung der freien Säure des basischen Hydrolysats von Flunitrazepam

Ca. 500 mg Flunitrazepam werden in 0,5 N-ethanol. KOH gelöst und 30 min. bei Raumtemperatur gerührt. Die gelbgefärbte Lösung wird mit 30proz. Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion (pH 6-7) versetzt. Im Anschluß daran wird Wasser im Überschuß dazugegeben, wobei ein voluminöser gelber Niederschlag ausfällt. Dieser wird abfiltriert und getrocknet. Ca. 50 mg des Niederschlages werden in wenig Methanol gelöst und auf eine Platte für präparative DC aufgetragen (PSC-Fertigplatten Kieselgel 60, ohne Fluoreszenzindikator, 2 mm Merck 5745).
Als Fließmittel dient ein Chloroform-Methanolgemisch (60+40).
Die Fraktion der freien Säure wird mit Methanol extrahiert

und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Bei der freien Säure des basischen Hydrolysats handelt es sich um gelbe Kristalle, die sich bei 170° zersetzen.

Tab. 27: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen der freien Säure des basischen Hydrolysats (16) in Aceton-d_6 (400 MHz)

ppm	Zuordnung	Kopplungskonstanten (Hz)
11.47	Carboxyl-H^x Amin-H	m
8.02	8-H	d ^oJ = 9,0 d ^mJ = 3,0
7.67	6-H	d ^mJ = 3,0
7.51	4'-H	q ^oJ = 7,5 $^mJ_{HF}$=7,5 d ^mJ = 1,5
7.29	5'-H	t ^oJ = 7,5
7.27	3'-H	t ^oJ,$^oJ_{HF}$= 7,5-9
7.23	6'-H	t ^oJ ca.7,5 d ^mJ = 1,5
6.70	9-H	d ^oJ = 9,0
3.85	3-H_2	-
2.99	H_2O	-
2.93	10-H_3	d ^3J = 5

x) Sind zwei verschiedene funktionelle Gruppen in einem Molekül vorhanden, die je ein Wasserstoffatom tragen, wird nur ein einziges gemitteltes Signal beobachtet[45].

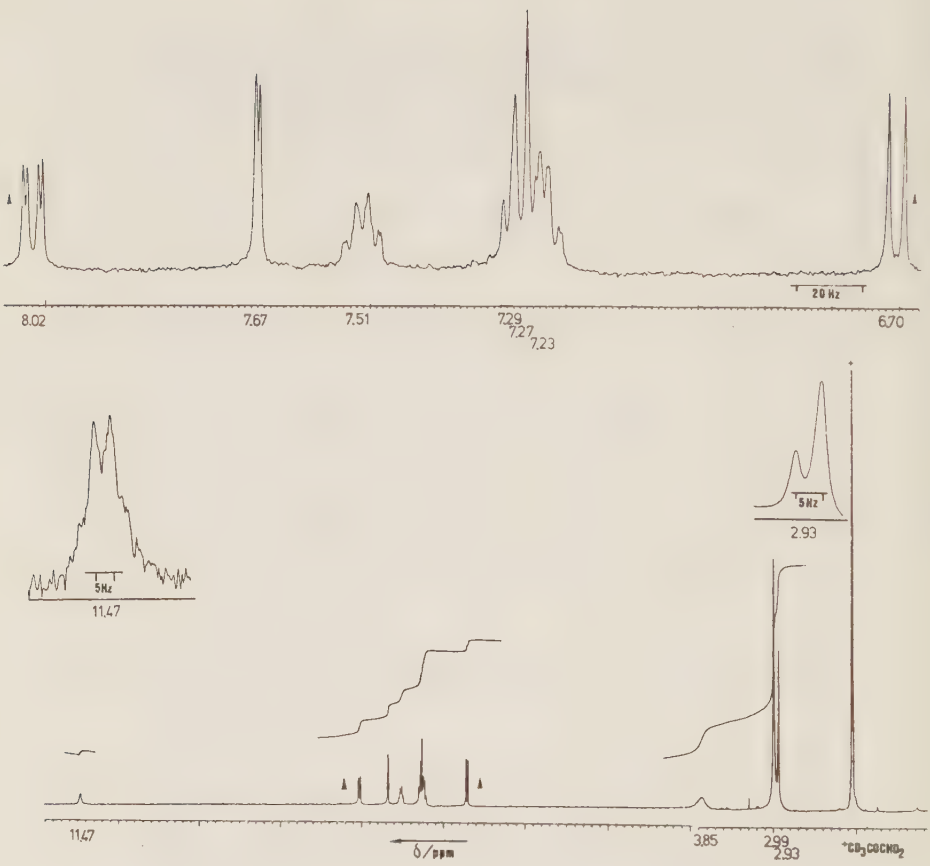


Abb. 53: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum der freien Säure des Glycyliminderivates (16) in Aceton-d_6
darüber: gespreizter Aromatenteilbereich

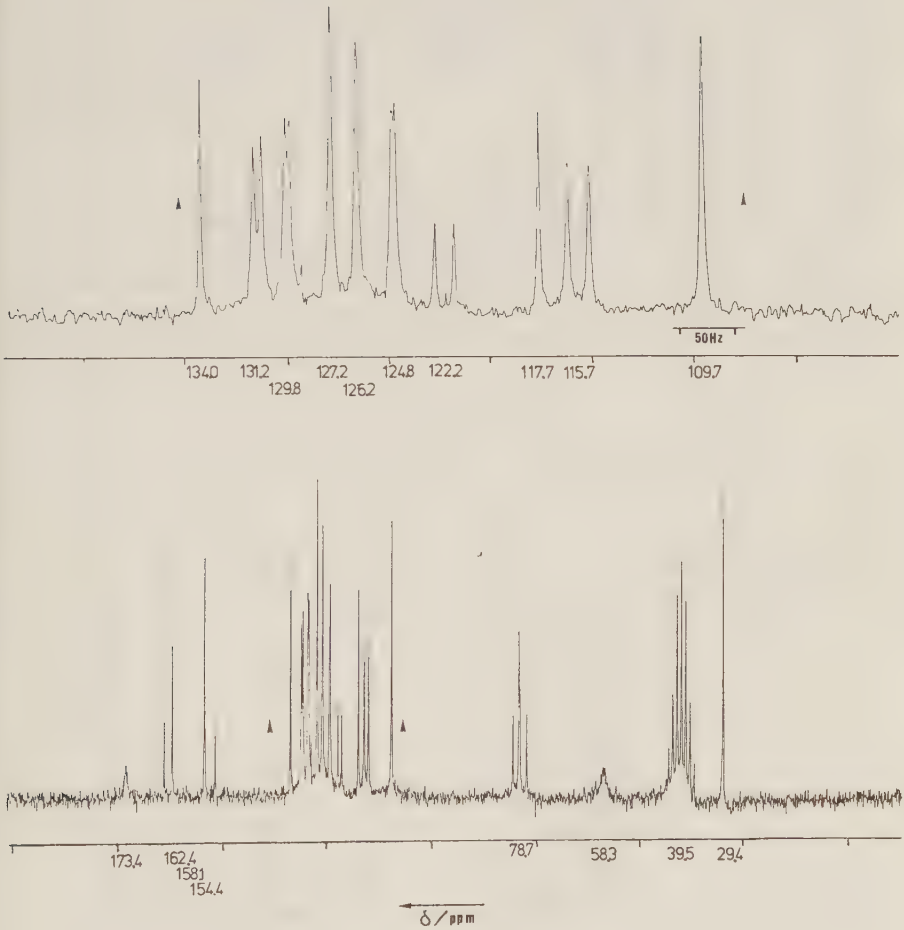


Abb. 54: Breitbandentkoppeltes ^{13}C-NMR-Spektrum der freien Säure (16) (22,63 MHz)
oben: gespreizter Aromatenbereich

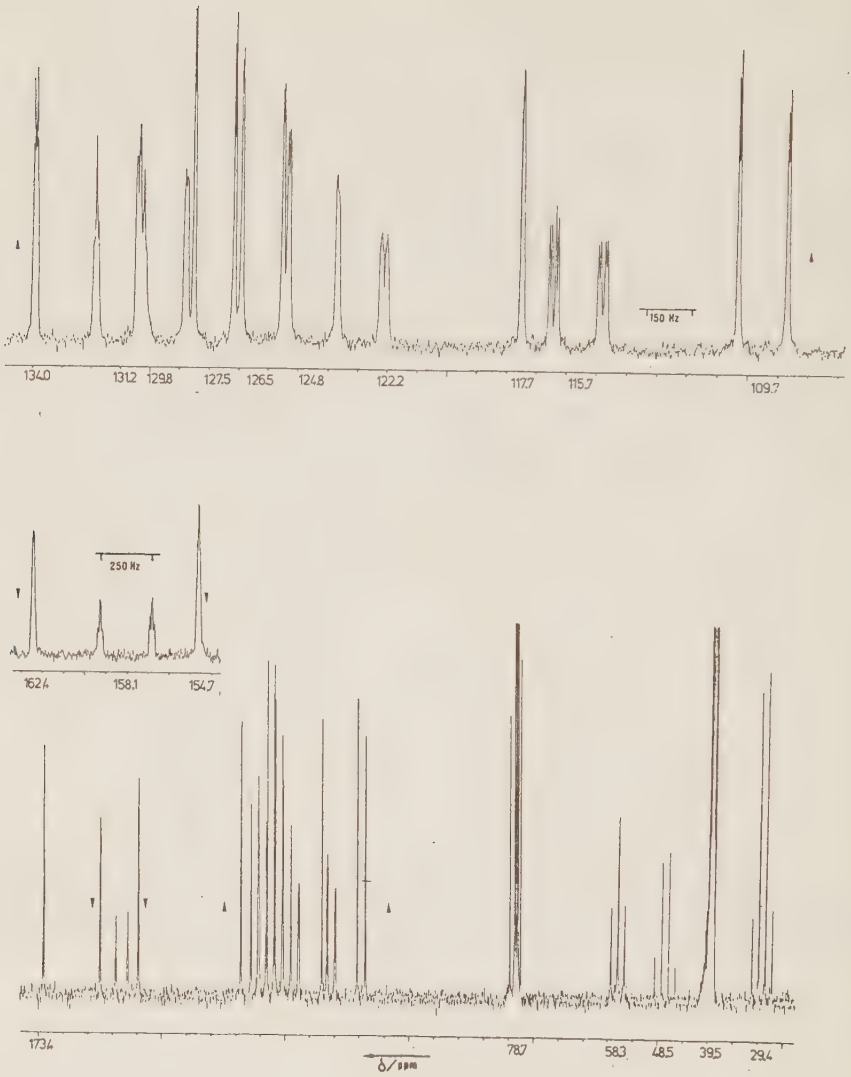


Abb. 55: Gekoppeltes ^{13}C-NMR-Spektrum der freien Säure (16) (100,57 MHz)
oben: gespreizter Aromatenbereich

Tab. 28: Zuordnung der ^{13}C-Resonanzen der freien Säure (16) des basischen Hydrolysats in $CDCl_3$/DMSO-d_6

ppm	gefundene Multiplizität	Kopplungskonstante J (Hz) mit Kopplungspartnern	Zuordnung
173.4	S	-	C-2
162.4	S		C-5
158.1	D t d	250 mit 2'-F 12,5 mit 4'6'-H_2 3 mit 3'-H	C-2'
154.7	S t d	 7,5 mit 6,8-H_2 3 mit 9-H	C-9a
134.0	S_d	9 mit 9-H	C-7
131.2	D t	162,5 mit 4'-H 7,5 mit 6'-H 2'-F	C-4'
129.8	D d d	162,5 mit 6'-H 7,5 mit 4'-H 4,5 mit 2'-F	C-6'
127.7	D d	162,5 mit 8-H 5 mit 6-H	C-8
126.5	D d	162,5 mit 6-H 5 mit 8-H	C-6
124.8	D d d	162,5 mit 5'-H 5 mit 3'-H 3 mit 2'-F	C-5'
122.2	S_d t	18,75 mit 2'-F 5 mit 3'5'-H_2	C-1'
117.7	S_d	5 mit 9-H	C-5a
115.7	D d d	167,5 mit 3'-H 20,5 mit 2'-F 7,5 mit 5'-H	C-3'
109.7	D d	166,3 mit 9-H 4 mit 8-H	C-9

Tab. 28 - Fortsetzung			
ppm	gefundene Multiplizität	Kopplungskonstante J (Hz) mit Kopplungspartnern	Zuordnung
78.7	D	210	$CHCl_3$
78.5			$CDCl_3$
58.3	T	135 mit 3-H_2	C-3
48.5[x]	Q	139.5	CH_3OH[x]
39.5			DMSO-d_6
29.4	Q	139,5 mit 10-H_3	C-10

x) Lösungsmittelrest, der nur im gekoppelten Spektrum zu sehen ist

Tab. 29: Inkrementberechnung für die freie Säure des basischen Hydrolysats von Flunitrazepam

	Flunitrazepam	theoretischer Wert	gefundener Wert freie Säure
C-5a	130.1	127.6	117.7
C-6	124.7	125.8	126.5
C-7	143.0	139.1	134.0
C-8	126.3	127.4	127.7
C-9	122.7	120.2	109.7
C-9a	147.6	155.7	154.7

Die Verschiebungsinkremente für das basische Hydrolysat wurden aus den Differenzen für die Inkremente von $-\underset{\underset{H}{|}}{N}-CO-CH_3$ gegenüber $-NH_2$ brechnet.

Die Abschirmung der o- und p-Positionen (C-5a, C-7 und C-9) fällt größer aus als erwartet, da der +M-Effekt der Methylaminogruppe durch den entgegengesetzten Effekt der Nitrogruppe noch verstärkt wird.

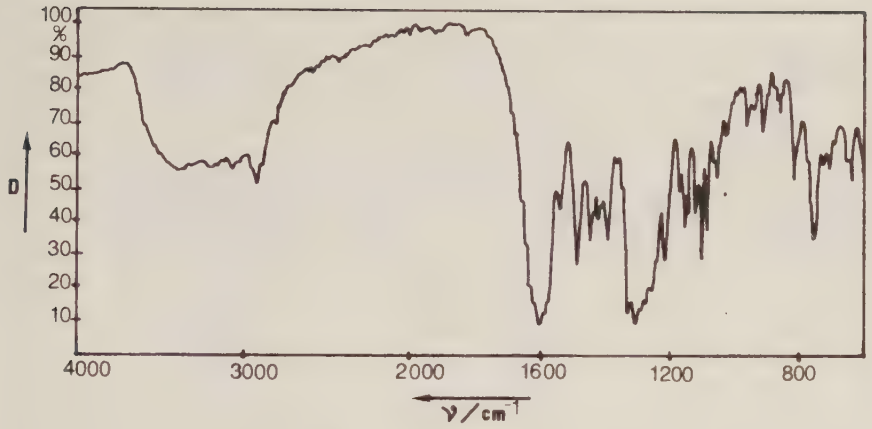


Abb. 56: IR-Spektrum der freien Säure (16) (KBr-Preßling)

3600-300 cm^{-1}	O-H-Valenz, verbreitert durch Wasserstoffbrücken bzw. Kristallwasser im KBr-Preßling
ca. 3400 cm^{-1}	N-H-Valenzschwingung (überlagert von O-H-Valenz)
3080 cm^{-1}	Aryl-H-Valenz
2920, 2810 cm^{-1}	CH_2-, CH_3-Valenzschwingungen
1605, 1495 cm^{-1}	C=C-Valenz (Aromat)
ca. 1600 cm^{-1}	C=O-Valenz (überlagert von der Aromatenbande)
1520, 1315 cm^{-1}	N-O-Valenz
1105 cm^{-1}	Aryl-F-Schwingung
810 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung des Nitroaromaten (1,3,4-trisubstituiert, 2 H-Atome benachbart)
755 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung des F-Phenylringes (1,2-disubstituiert, 4 H-Atome benachbart)

Tab. 30: Zuordnung der ^{1}H-Resonanzen des Glyciniminderivates von N-1-Methylnitrazepam (17a/b) in D_2O (400 MHz) nach 3-4 h in Lösung

ppm von 17a (Anfangsprodukt)	ppm von 17b (verdoppelte Signale)	zugeordnetes Proton	Aufspaltungsmuster mit Kopplungskonstanten (Hz)
8.48	-	1-H	-
8.28	•8.02	8-H	d ^oJ = 9 d ^mJ = 3
7.90	•7.60	6-H	d ^mJ = 3
7.67	•7.14	2',6'-H_2	d ^oJ = 7,5
7.55	•7.51	4'-H	t ^oJ = 7,5
7.46	•7.43	3',5'-H_2	t ^oJ = 7,5
6.82	•6.76	9-H	d ^oJ = 9
4.15/4.07	•4.02	3-H_2	d ^2J = 17 (nur 17a)
2.82	•3.06	10-H_3	-

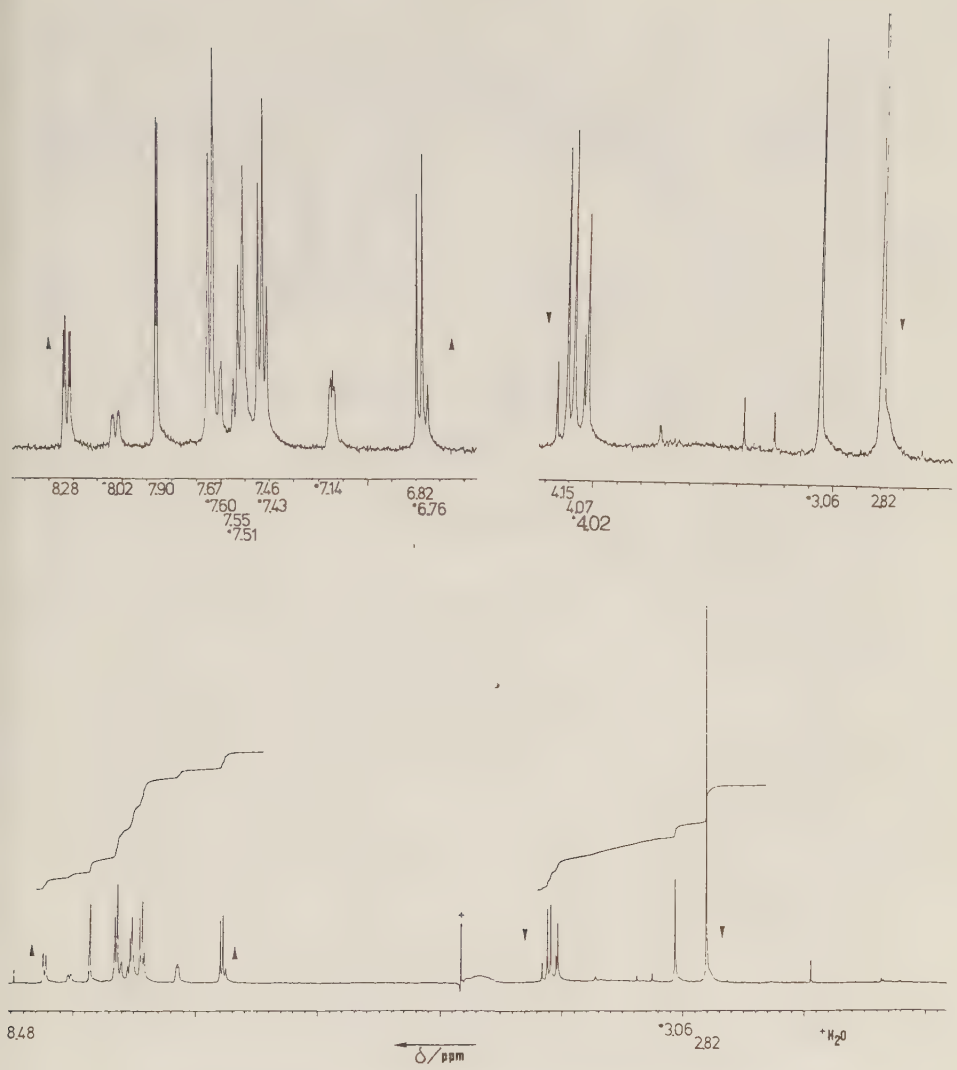


Abb. 57: 400 MHz-^{1}H-NMR-Spektrum des Natriumsalzes des basischen Hydrolysats von N-1-Methylnitrazepam nach 3-4 h in Lösung in D_2O
darüber: gespreizter Aromaten- und Aliphatenbereich

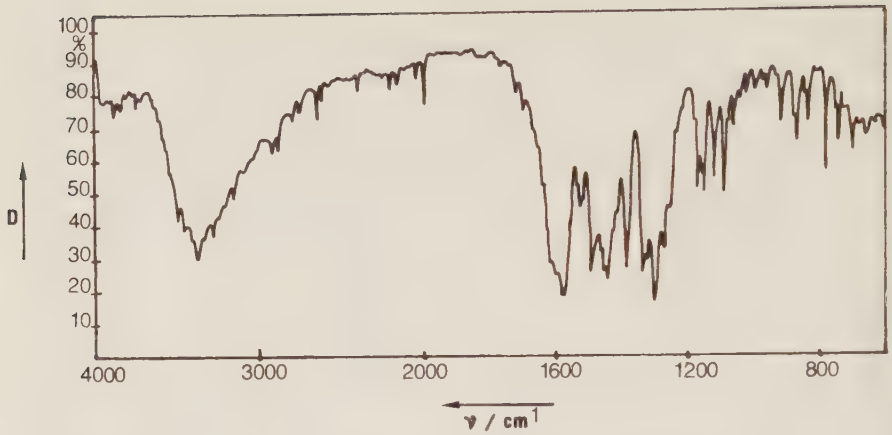


Abb. 58: IR-Spektrum des Glyciniminderivates von N-1-Methyl-nitrazepam (17)

Das IR-Spektrum von 17 (Abb.58) zeigt folgende charakteristische Banden:

3380 cm^{-1}	N-H-Valenz, verbreitert durch Wechselwirkung mit der Carboxylatgruppe
3140 cm^{-1}	C-H-Valenzschwingung der Aromaten
2920, 2880 cm^{-1}	C-H-Valenzschwingung der CH_3- und CH_2-Gruppe
1575 cm^{-1}	Valenzschwingung der Carboxylat-C=O
1600, 1525, 1495 cm^{-1}	C=C-Valenzschwingung der Aromaten
1520, 1330 cm^{-1}	N-O-Valenzschwingung
1295, 1265 cm^{-1}	C-N-Valenzschwingung
860 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung (2 benachbarte H in trisubstituiertem Aromaten)
775, 695 cm^{-1}	C-H-Deformationsschwingung im monosubstitutierten Aromaten

5.7 Prüfung auf künstliche Maxima

Zur Überprüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetz wurden UV-Spektren der einzelnen Verbindungen in unterschiedlichen Konzentrationen aufgenommen und die ε-Werte der jeweiligen Maxima verglichen.

Tab. 31: Elektronenspektren von Flunitrazepam bei unterschiedlicher Konzentration

Konzentration (mol/l)	E_{305}	ε_{305}	E_{240}	ε_{240}	E_{215}	ε_{215}
$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	0,260	10 400	0,403	16 120	0,599	23 960
$3{,}75 \cdot 10^{-5}$	0,392	10 453	0,606	16 160	0,901	24 027
$5 \cdot 10^{-5}$	0,530	10 600	0,820	16 400	1,200	24 000

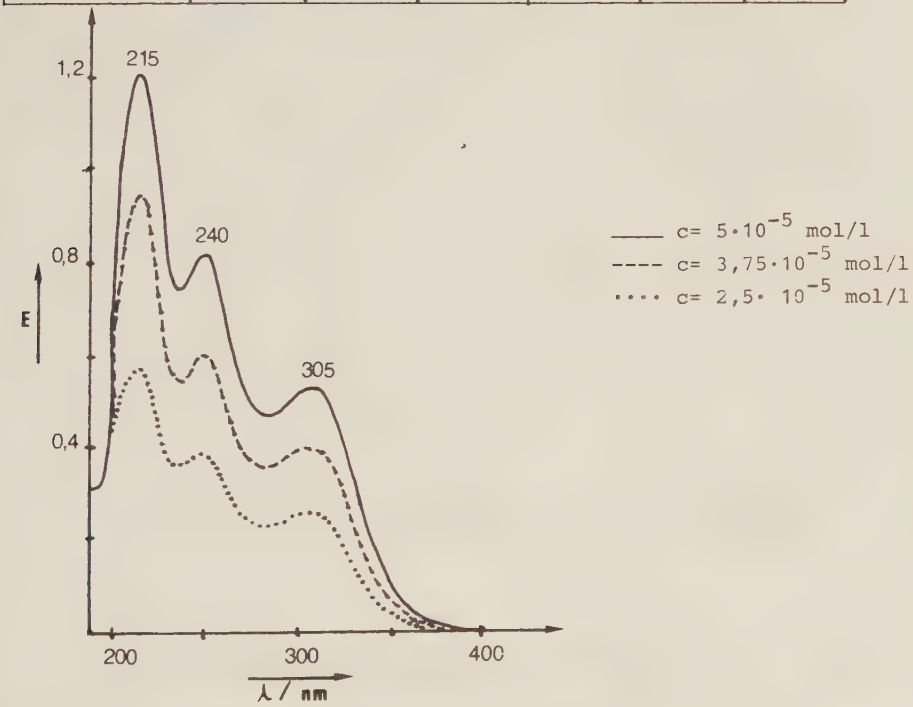


Abb. 59: Elektronenspektrum von Flunitrazepam in abs. Ethanol

Tab. 32: Elektronenspektren von N-1-Methylnitrazepam (13a) bei unterschiedlicher Konzentration

Konzentration (mol/l)	E_{307}	ε_{307}	E_{257}	ε_{257}	E_{217}	ε_{217}
$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	0,272	10 880	0,423	16 920	0,638	25 520
$3{,}75 \cdot 10^{-5}$	0,409	10 906	0,638	17 013	0,962	25 653
$5 \cdot 10^{-5}$	0,541	10 820	0,850	17 000	1,280	25 600

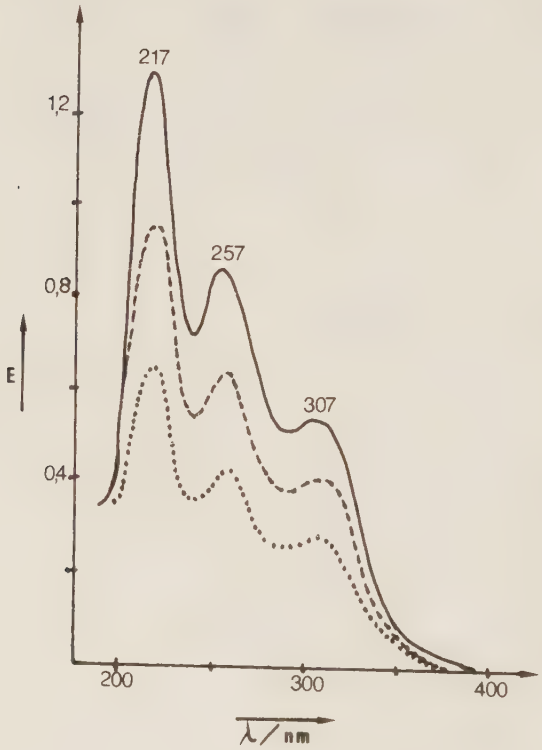


Abb. 60: Elektronenspektrum von N-1-Methylnitrazepam (13a) in abs. Ethanol

Tab. 33: Elektronenspektren des Glyciniminderivates von Flunitrazepam bei unterschiedlicher Konzentration

Konzentration (mol/l)	E_{368}	ε_{368}	E_{230}	ε_{230}	E_{205}	ε_{205}
$0,5 \cdot 10^{-4}$	0,165	3 300	0,250	5 000	0,382	7 640
10^{-4}	0,335	3 350	0,515	5 150	0,720	7 200
$1,5 \cdot 10^{-4}$	0,527	3 513	0,788	5 253	1,038	6 920

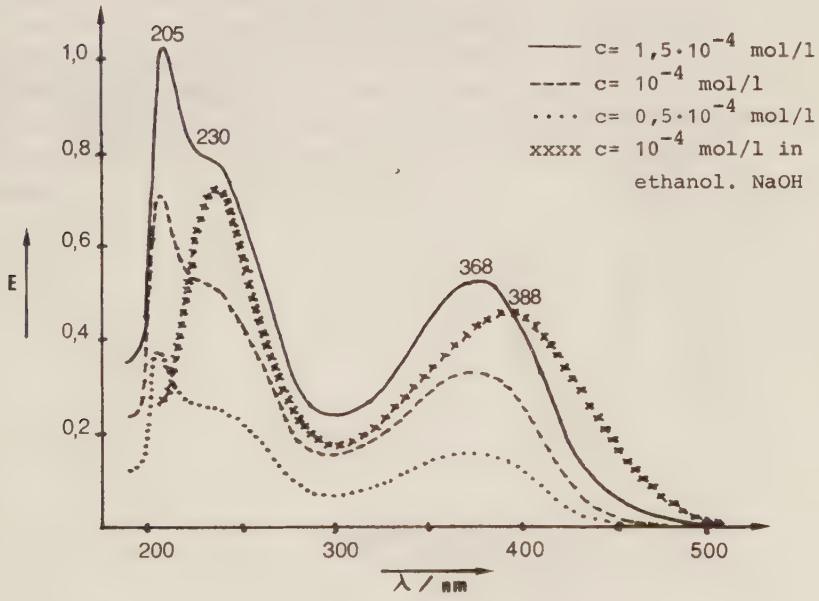


Abb. 61: Elektronenspektrum des basischen Hydrolysats von Flunitrazepam in abs. Ethanol

Tab. 34: Elektronenspektren des Benzophenonderivates (15) bei unterschiedlichen Konzentrationen

Konzentration (mol/l)	E_{363}	ε_{363}	E_{250}	ε_{230}	E_{203}	ε_{203}
$0{,}25 \cdot 10^{-4}$	0,451	18 040	0,421	16 840	0,419	16 760
$0{,}5 \cdot 10^{-4}$	0,915	18 300	0,835	16 700	0,735	14 700
$0{,}75 \cdot 10^{-4}$	1,324	17 653	1,231	16 413	1,050	14 000

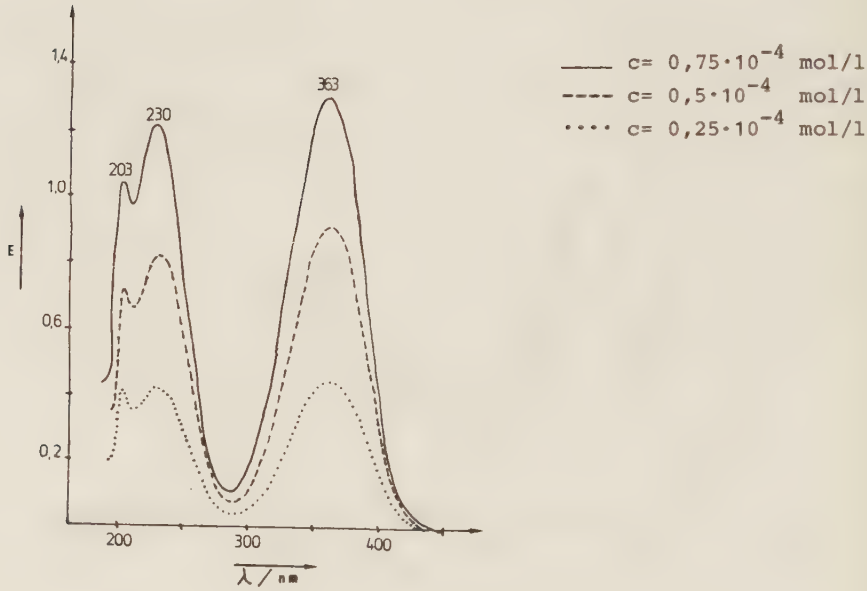


Abb. 62: Elektronenspektrum des Benzophenonderivates (15) in abs. Ethanol

Das Maximum bei 215 nm in Flunitrazepam (Tab. 31, Abb. 59) ist ein echtes Maximum, da die ε-Werte annähernd gleich sind und folglich die Extinktion linear zur Konzentration steigt.
Auch bei N-1-Methylnitrazepam (Tab. 32, Abb. 60) liegen keine künstlichen Maxima vor.
Im Glyciniminderivat von Flunitrazepam (Tab. 33, Abb. 61) sind die ε-Werte bei 205 nm stärkeren Schwankungen unterworfen als diejenigen bei 368 und 230 nm. Die Abweichungen liegen im ersten Fall bei ca. 5%, während sie sich bei den anderen Maxima zwischen 0,3 und 3% bewegen. Weiterhin tritt das Maximum bei 205 nm nur in Ethanol, nicht aber in ethanol. NaOH auf. Aus diesen Ergebnissen läßt sich schließen, daß das Maximum bei 205 nm künstlich ist.
Während beim Benzophenonderivat (Abb. 62, Tab. 34) die ε-Werte der Maxima bei 363 und 230 nm nur Schwankungen zwischen 0,2 und 2% unterliegen, sind die Abweichungen der ε-Werte des 203 nm-Maximums mit ca. 10% vom Mittelwert deutlich höher. Die Extinktion bei 203 nm steigt nicht linear mit zunehmender Konzentration. Folglich handelt es sich um ein künstliches Maximum.

6 Anhang: Versuche zur elektronenspektroskopischen Bestimmung von Diazepam über sein MEISENHEIMER Salz

6.1 Überprüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes

In der Regel wird das Lambert-Beersche Gesetz schon in Konzentrationen unter 10^{-2} mol/l erfüllt. Abweichungen können durch Beteiligung des absorbierenden Stoffes an konzentrationsabhängigen Gleichgewichten, z.B. Dissoziation, Assoziation oder Lösungsmitteleffekte[46] bzw. photochemische Unbeständigkeit der absorbierenden Verbindung[47] auftreten.
Zur Überprüfung der Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes wurden Elektronenspektren des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam und m-DNB unter Verwendung unterschiedlicher Diazepamkonzentrationen aufgenommen. m-DNB lag gegenüber Diazepam immer in der doppelten molaren Konzentration vor, der Laugenzusatz war konstant: $c_{TMAH} = 3 \cdot 10$ mol/l (Tab. 35).

Tab. 35: Abhängigkeit der E- und ε-Werte von der Diazepamkonzentration

$c_{Diaz.}$ mol/l	E_{555}	ε
$5 \cdot 10^{-4}$	0,021	42
$7{,}5 \cdot 10^{-4}$	0,078	104
10^{-3}	0,095	95
$2{,}5 \cdot 10^{-3}$	0,589	236
$5 \cdot 10^{-3}$	1,930	386

Der Anstieg der Extinktion erweist sich als nicht linear zur Diazepamkonzentration. Die erzielten ε-Werte steigen mit zunehmender Konzentration stark an. Damit ist bewiesen, daß das Lambert-Beersche Gesetz in diesem Fall keine uneingeschränkte Gültigkeit besitzt.

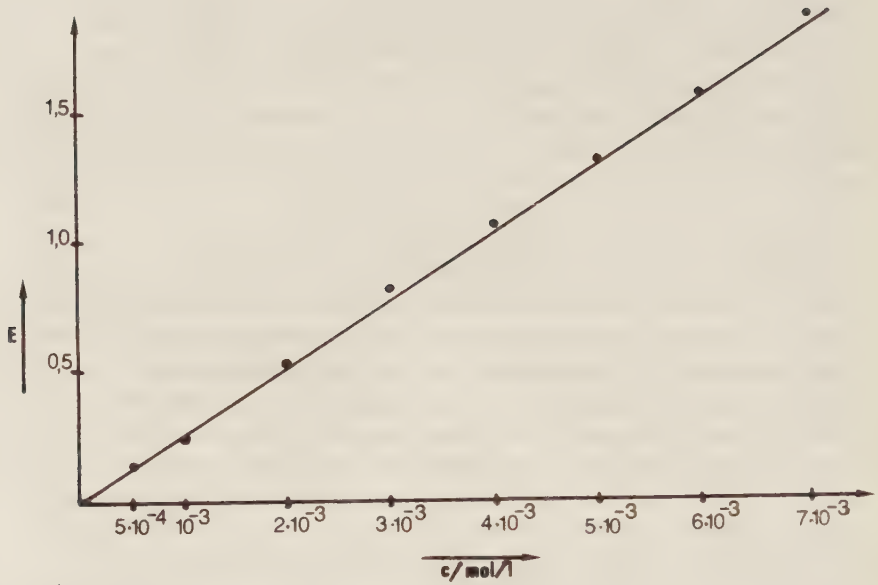
Der Grund liegt vermutlich darin, daß das MEISENHEIMER Salz von Diazepam und m-DNB in Ethanol instabil ist, und Bildung und Zersetzung nebeneinander ablaufen.
Eine quantitative Bestimmung ist unter gegebenen Reaktionsbedingungen also nur in einem bestimmten Konzentrationsbereich möglich.

6.2 Erstellung von Eichgeraden für Diazepam

Unterschiedliche Konzentrationen an Diazepam wurden mit jeweils gleichen Mengen m-DNB-Lösung in Ethanol versetzt, danach 3,00 ml TMAH zugegeben und mit Ethanol auf 10,00 ml aufgefüllt. Die Reihenfolge der Reagenzienzugabe wurde immer in dieser Weise beibehalten. Nach genau zehn Minuten wurde die Extinktion dieser Lösung bei 552 nm festgestellt (Tab. 36, Abb. 63).

Tab. 36: Extinktionen und ε-Werte des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam und m-DNB
$c_{m\text{-}DNB} = 10^{-2}$ mol/l
$c_{TMAH} = 3 \cdot 10^{-2}$ mol/l

$c_{Diazepam}$	E_{552}	ε
$0{,}5 \cdot 10^{-3}$	0,140	280
10^{-3}	0,245	245
$2 \cdot 10^{-3}$	0,534	267
$3 \cdot 10^{-3}$	0,809	270
$4 \cdot 10^{-3}$	1,062	265
$5 \cdot 10^{-3}$	1,290	258
$6 \cdot 10^{-3}$	1,550	258
$7 \cdot 10^{-3}$	1,890	270



Bestimmtheitsmaß r^2 = 0,9983

Geradengleichung y = 0,0029 + 0,2647 x

Abb. 63: Eichgerade zur Bestimmung von Diazepam über sein MEISENHEIMER Salz

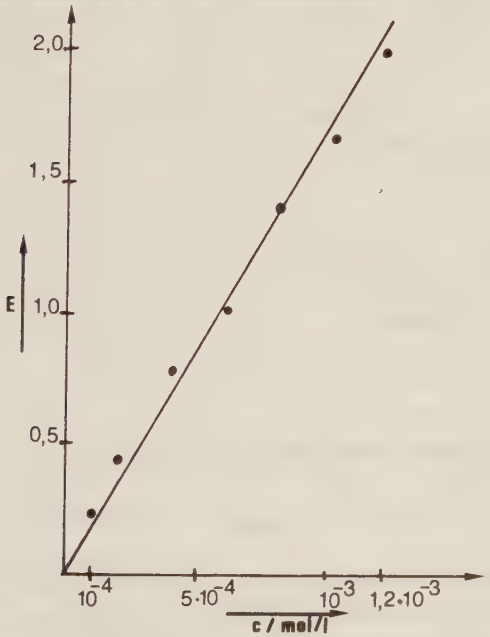
$c_{m\text{-}DNB} = 10^{-2}$ mol/l $c_{TMAH} = 3 \cdot 10^{-2}$ mol/l

Wie Tabelle 36 und Abbildung 63 zeigen, verläuft der Anstieg der Extinktion in Abhängigkeit von der Diazepamkonzentration zwischen $0{,}5 \cdot 10^{-3}$ und $7 \cdot 10^{-3}$ mol/l, entsprechend einem Betrag von 1,42 bis 19,9 mg, linear. In diesem Bereich ist unter den gegebenen Reaktionsbedingungen (Meßzeit, m-DNB und TMAH-Konzentration) eine quantitative Bestimmung möglich.
Da das Lambert-Beersche Gesetz nur bedingt gültig ist, müssen die Reaktionsbedingungen für Konzentrationen außerhalb dieses Bereiches modifiziert und neue Eichgeraden aufgestellt werden. Für Diazepamkonzentrationen unter $0{,}5 \cdot 10^{-3}$ mol/l werden der m-DNB und TMAH-Überschuß vergrößert (Tab. 37 und Abb. 64 und 65).

Tab. 37: Extinktion und ε-Werte des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam und m-DNB

$c_{m\text{-}DNB} = 5 \cdot 10^{-2}$ mol/l $c_{TMAH} = 4 \cdot 10^{-2}$ mol/l

$c_{Diazepam}$	E_{552}	ε
10^{-4}	0,225	2250
$2 \cdot 10^{-4}$	0,426	2130
$4 \cdot 10^{-4}$	0,734	1835
$6 \cdot 10^{-4}$	1,052	1753
$8 \cdot 10^{-4}$	1,400	1750
10^{-3}	1,664	1664
$1,2 \cdot 10^{-3}$	2,018	1682



Bestimmtheitsmaß $r^2 = 0,9990$

Geradengleichung $y = 0,0882 + 1,6053\ x$

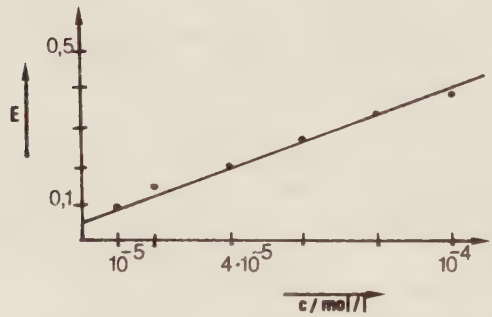
Abb. 64: Eichgerade zur Bestimmung von Diazepam über sein MEISENHEIMER Salz

$c_{m\text{-}DNB} = 5 \cdot 10^{-2}$ mol/l $c_{TMAH} = 4 \cdot 10^{-2}$ mol/l

Tab. 38: Extinktionen und ε-Werte des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam und m-DNB

$c_{m\text{-}DNB} = 5 \cdot 10^{-2}$ mol/l $\quad c_{TMAH} = 7 \cdot 10^{-2}$ mol/l

$c_{Diazepam}$	E_{552}	ε
10^{-5}	0,093	9300
$2 \cdot 10^{-5}$	0,150	7500
$4 \cdot 10^{-5}$	0,203	5075
$6 \cdot 10^{-5}$	0,276	4600
$8 \cdot 10^{-5}$	0,340	4250
10^{-4}	0,393	3930



Bestimmtheitsmaß $r^2 = 0,9936$

Geradengleichung $y = 0,0732 + 0,3277\ x$

Abb. 65: Eichgerade zur Bestimmung von Diazepam über sein MEISENHEIMER Salz

$c_{m\text{-}DNB} = 5 \cdot 10^{-2}$ mol/l $\quad c_{TMAH} = 7 \cdot 10^{-2}$ mol/l

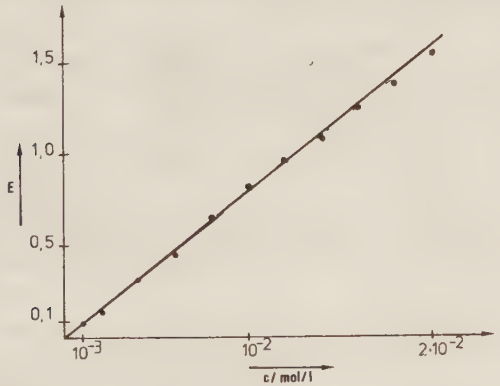
Der Anstieg der Extinktion ist zwischen 10^{-5} und 10^{-3} mol/l (≙ 0,028-2,8 mg) linear. Obwohl die ε-Werte insgesamt höher liegen, unterliegen sie innerhalb dieser Reihen starken Schwankungen, so daß die Genauigkeit der Methode dadurch herabgesetzt ist.

Zur Bestimmung von Diazepamkonzentrationen über $7 \cdot 10^{-3}$ mol/l werden die m-DNB- und TMAH-Konzentrationen verringert (Tab. 39, Abb. 66).

Tab. 39: Extinktionen und ε-Werte des MEISENHEIMER Salzes von Diazepam und m-DNB

$c_{m\text{-}DNB} = 10^{-2}$ mol/l $\quad$ $c_{TMAH} = 10^{-2}$ mol/l

$c_{Diazepam}$	E_{552}	ε
10^{-3}	0,074	74
$2 \cdot 10^{-3}$	0,143	72
$4 \cdot 10^{-3}$	0,312	78
$6 \cdot 10^{-3}$	0,462	77
$8 \cdot 10^{-3}$	0,642	80
10^{-2}	0,816	82
$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	0,953	79
$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	1,082	77
$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	1,245	78
$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	1,378	77
$2 \cdot 10^{-2}$	1,538	77



Bestimmtheitsmaß $r^2 = 0{,}9987$ $\quad$ Geradengleichung $y = 0{,}0063 + 0{,}7725\ x$

Abb. 66: Eichgerade zur Bestimmung von Diazepam über sein MEISENHEIMER Salz

$c_{m\text{-}DNB} = 10^{-2}$ mol/l $\quad$ $C_{TMAH} = 10^{-2}$ mol/l

Die Extinktion steigt zwischen 10^{-3} und $2 \cdot 10^{-2}$ mol/l (≙ 2,8-56 mg) linear an. Durch die Herabsetzung der TMAH- und m-DNB-Konzentration sinken die ε-Werte. Damit ist ebenfalls eine Einbuße an Genauigkeit verbunden.

7 Literaturverzeichnis

1) Ph.Eur.III, 1974.
2) H. Schütz, Dtsch.Apoth.Ztg. 121, 1655 und 1816 (1981).
3) K.-A. Kovar und D. Linden, Pharm.Acta Helv. 58, 66 (1983).
4) W. Metlesics, R.F. Tavares und L.H. Sternbach, J.Org.Chem. 30, 1311 (1965).
5) L.H. Sternbach, G.A.Archer, J.V. Earley, R.I. Fryer, E. Reeder, N. Wasyliw, L.O. Randall und R. Banzinger, J.Med.Chem. 8, 815 (1965).
6) L.H.Sternbach, G.A. Archer und E. Reeder, J.Org.Chem. 28, 3013 (1963).
7) H. Auterhoff und K.-A. Kovar, Identifizierung von Arzneistoffen, Wissenschaftl. Verlagsges.m.b.H. Stuttgart, 5. Aufl. 1985.
8) K.-A. Kovar und B. Biegert, Arch.Pharm.(Weinheim) 309, 522 (1976).
9) M. Kimura, M. Kawata, M. Nakadate, N. Obi und M. Kawazoe, Chem.Pharm.Bull. 16, 634 (1968).
10) O. Neunhoeffer, K. Thewalt und W. Zimmermann, Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 323, 116 (1961).
11) M.J. Strauss, Chem.Rev. 70, 667 (1970).
12) F. Ferrier, J.-C. Halle und M.-P. Simonnin, Org.Magn. Reson. 3, 361 (1971).
13) M. Kimura, J.Pharmaceut.Soc.Japan 73, 1219 (1953).
14) M. Kimura, M. Kawata und M. Nakadate, Chemistry and Ind. 2065 (1965).
15) T. Canbäck, Chem.Abstr. 45, 2961 (1951).
16) M. Kawazoe, Chem.Pharm.Bull. 16, 634 (1968).
17) E.J. Fendler, J.H. Fendler, N.L. Arthur und C.E. Griffin, J.Org.Chem. 37, 813 (1972).
18) M.R. Crampton und V. Gold, J.Chem.Soc. 4293 (1964).
19) M. Karplus, J.Chem.Phys. 30, 11 (1959).
20) M. Barfield, J.Chem.Phys. 41, 3825 (1964).
21) E. Finner, H. Zeugner und W. Milkowski, Arch.Pharm.(Weinheim) 317 1050 (1984).

22) K.-A. Kovar und U. Bitter, Arch.Pharm.(Weinheim) 307, 561 (1974).
23) K.-A. Kovar, I. Schlecht, R. Weber, A. Guarnieri und L. Varoli, Arch.Pharm.(Weinheim) 318, 149 (1985).
24) J. Barrett, W.F. Smyth und I.E. Davidson, J.Pharm.Pharmacol. 25, 387 (1973).
25) K.-A. Kovar, D. Linden und E. Breitmaier, Arch.Pharm. (Weinheim) 314, 186 (1981).
26) E. Finner, H. Zeugner und W. Milkowski, Arch.Pharm.(Weinheim) 317, 79 (1984).
27) S.C. Bell, T.S. Sulkowski, C. Gochmann und S.C. Childress, J.Org.Chem. 27, 562 (1962).
28) L.H. Sternbach und E. Reeder, J.Org.Chem. 26, 1111 (1961).
29) G. Rücker, Dtsch.Apoth.Ztg. 115, 935 (1975).
30) W. Bley, P. Nuhn und G. Benndorf, Arch.Pharm.(Weinheim) 301, 444 (1968).
31) P. Linscheid und J.-M. Lehn, Bull.Soc.Chim.Fr. 3, 992 (1967).
32) H.G. Schmid, H. Fribolin, S. Kabuß und W. Faißt, Org.Mag. Reson. 1, 451 (1969).
33) F.A.L. Anet, J.Am.Chem.Soc. 86, 458 (1964).
34) W. Sadée, Arch.Pharm.(Weinheim) 302, 769 (1969).
35) G. Romeo, M.C. Aversa, P. Gianetto, M.G. Vigorita und P.Ficarra, Org.Magn.Reson. 12, 593 (1979).
36) Dissertation D. Linden, Tübingen 1982.
37) C.J. Pouchert und J.R. Campbell, The Aldrich Library of NMR-Spectra, Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, Wisconsin, 1974.
38) E. Breitmaier und G. Bauer, ^{13}C-NMR-Spektroskopie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
39) S. Sternhell, Quart.Rev. 23, 236 (1969).
40) D. Lauer und H.A. Staab, Tetrahedr.Lett. 177, (1968).
41) C.E. Johnson und F.A. Bovey, J.Chem.Phys. 29, 1012 (1958).
42) S.P. Singh, S.S. Parmar, S.A. Farnum und V.I. Stenberg, J.Heterocycl.Chem. 15, 1083 (1978).
43) G. Gräfe und W. Schmehling, Dtsch.Apoth.Ztg. 116, 163 (1976).
44) L.H. Sternbach und E. Reeder, J.Org.Chem. 26, 4936 (1961).

45) N. Hesse, H. Meier und B. Zeeh, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2. Aufl. 1984.

46) G. Kortüm, Kolorimetrie, Photometrie und Spektrometrie, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1962.

47) M. Pestemer, Anleitung zum Messen von Absorptionsspektren im Ultravioletten und Sichtbaren, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1964.

Lebenslauf

Geboren:	am 31.5.1959 in Georgensgmünd
Eltern:	Felix Schielein, Apotheker und
	Erika Schielein, geb. Seidler, Apothekerin
Familienstand:	verheiratet seit 14.12.1984 mit Peter Kaiser

Schulischer Werdegang

Grundschule:	Volksschule Georgensgmünd
	September 1965 - Juli 1967
	Maria-Ward-Schule, Nürnberg
	September 1967 - Juli 1969
Gymnasium:	Willstätter-Gymnasium, Nürnberg
	September 1969 - Juni 1977
Reifeprüfung:	24. Juni 1977

Beruflicher Werdegang

Studium der Pharmazie:	Universität Regensburg
	WS 1977/78 bis WS 1980/81
Pharmaziepraktikum:	Hirschapotheke, Urach, Kreis Reutlingen
	Mai 1981 - Mai 1982

Pharmazeutische Prüfungen:

1. Abschnitt:	27. März 1980
2. Abschnitt:	13. Mai 1981
3. Abschnitt:	7. Juni 1982
Approbation:	1. Juli 1982

Beginn der vorliegenden Arbeit:	Oktober 1982
Abschluß der Arbeit:	Mai 1985
Wiss. Hilfskraft:	Oktober 1982 - April 1984
Wiss. Angestellte:	Mai 1984 - Juli 1985

Meine akademischen Lehrer außer Herrn Prof. Dr. K.-A. Kovar waren die Herren Professoren und Dozenten:

Chemie:	G. Märkl, J. Sauer, A. Mannschreck, Regensburg
Physik:	E. Müller-Broich, Regensburg
Pharmaz. Chemie:	W. Wiegrebe, H. Schönenberger, Regensburg und H.J. Roth, Tübingen
Pharmaz. Biologie:	G. Franz, Regensburg
Pharmaz. Technologie:	H. Rupprecht, Regensburg
Pharmakologie:	H. Grobecker, Regensburg H.P.T. Ammon, Tübingen

ifo druck
laubanger 15
8600 bamberg
tel.: 0951/64321